

THÈSE

de Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

par

ANNE-MARIE DOSNE

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences

SUJET DE LA THÈSE

**Contribution à l'étude des modifications
de la coagulation au cours du choc
transfusionnel hémolytique.**

soutenue le 23 Juin 1970 devant la Commission d'Examen

MM. A. M. MONNIER Président

E. CORABOEUF)
J. MALMEJAC) Examineurs

J. P. SOULIER Invité

N° d'enregistrement au C. N. R. S.

A O 4577

THÈSE

de Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

par

ANNE-MARIE DOSNE

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences

SUJET DE LA THÈSE

**Contribution à l'étude des modifications
de la coagulation au cours du choc
transfusionnel hémolytique.**

soutenue le 23 Juin 1970 devant la Commission d'Examen

MM. A. M. MONNIER Président

E. CORABOEUF

J. MALMEJAC

J. P. SOULIER

} Examinateurs

Invité

THESE

DE DOCTORATUS IN PHILOSOPHIA

PER

JOHANNEM

DE WET

PROFESSOREM

IN

PHILOSOPHIA

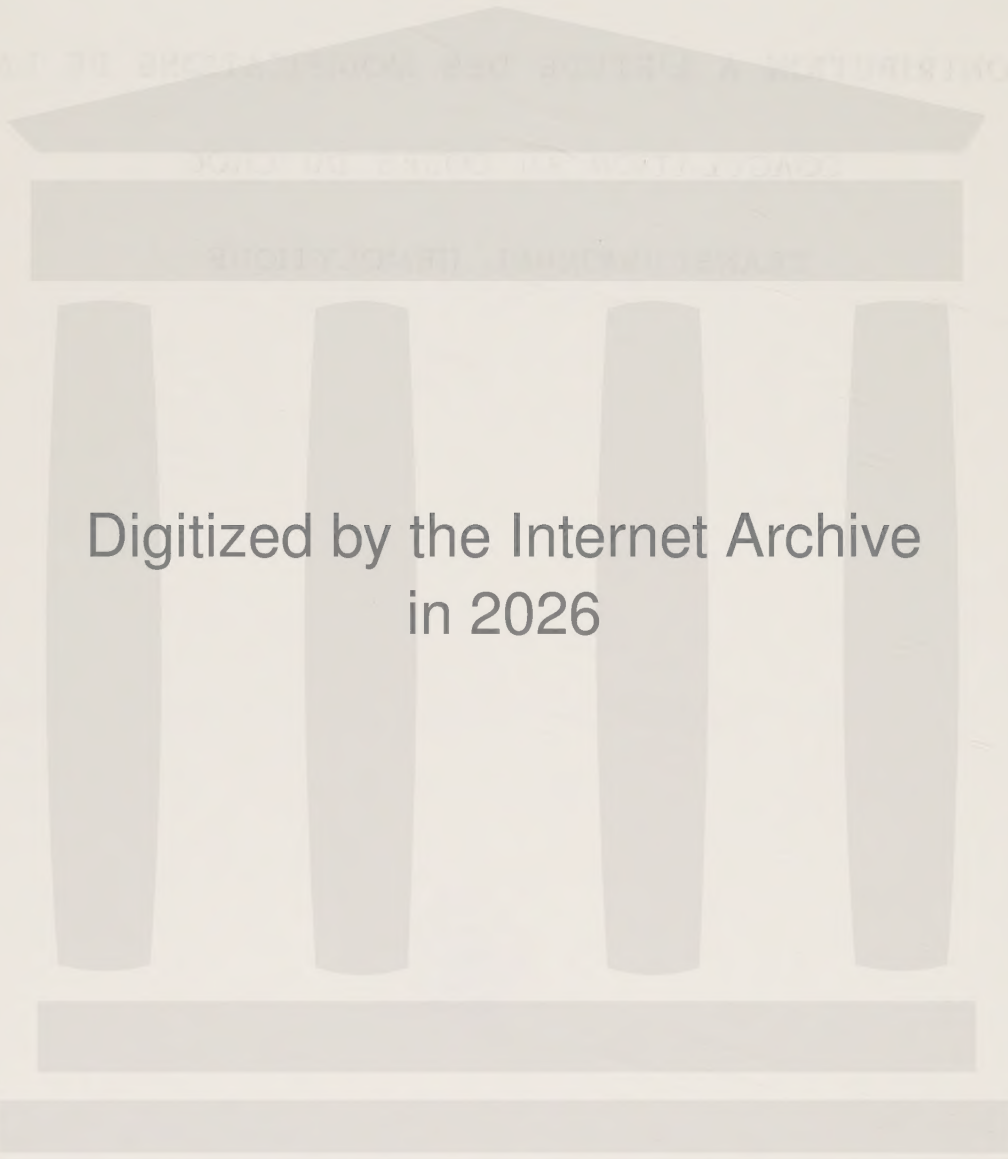
ET

IN



CONTRIBUTION A L'ETUDE DES MODIFICATIONS DE LA
COAGULATION AU COURS DU CHOC
TRANSFUSIONNEL HEMOLYTIQUE

Travail réalisé au Laboratoire de Physiologie du C.H.U. Cochin,
équipe associée au C.N.R.S.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549902_0009

A ma mère

A ma famille

A mes amis

Je remercie Monsieur le Professeur A.M. MONNIER de l'honneur qu'il me fait en présidant le jury de cette thèse. Le stage que j'ai effectué dans son service a renforcé mon intérêt pour la physiologie que son enseignement avait déjà suscité. Ses remarques et ses suggestions m'ont été très utiles. Je le prie de trouver ici un témoignage de ma respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur E. CORABOEUF, a accepté d'examiner et de juger ce travail. Je lui suis infiniment reconnaissante de l'accueil qu'il m'a réservé et de l'attention qu'il a bien voulu m'accorder.

Monsieur le Professeur J. MALMEJAC a contribué, par ses conseils et sa bienveillante autorité, à ma formation de chercheur. M'initiant aux techniques expérimentales et m'entraînant à la rigueur du raisonnement physiologique, il m'a fait partager son enthousiasme pour la recherche. La confiance qu'il m'a témoignée, ses encouragements et ses critiques m'ont permis de réaliser ce travail. Je suis heureuse de pouvoir lui exprimer mon profond attachement et ma respectueuse admiration.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur J.P. SOULIER qui m'a suggéré l'orientation de cette thèse et m'a incitée de cette manière à élargir le champ de mes recherches. Sa grande compétence en matière de coagulation sanguine m'a permis d'aborder l'étude de certaines questions qui me sont devenues plus accessibles grâce à ses conseils et à son bienveillant accueil au Centre National de Transfusion sanguine. Je lui suis profondément reconnaissante de l'intérêt qu'il m'a témoigné.

Que soient également remerciés les Docteurs JOSSO et DISTEL ainsi que Mademoiselle SORIA pour l'aide qu'ils m'ont apportée dans l'application de certaines techniques et dans la présentation de ce travail.

Cette thèse est dédiée à l'équipe du laboratoire dont la collaboration et l'amitié m'ont soutenue dans toutes les étapes de ce travail.

AVANT - PROPOS

- : - : - : - : - : - : - : -

Le choc transfusionnel hémolytique est un accident brutal consécutif à l'administration de sang incompatible. Cette incompatibilité sanguine apparaît soit parce que le receveur agglutine et lyse les hématies injectées, soit, plus rarement parce que le sang transfusé agglutine et lyse les hématies du receveur.

Ce phénomène est caractérisé par une baisse de la pression artérielle d'importance variable, par une tendance hémorragique fréquente et par une hémolyse intravasculaire.

Les données cliniques et expérimentales concernant les troubles de la coagulation sont fragmentaires, souvent discordantes et difficilement comparables en raison de la variabilité des conditions d'observation.

Ces divergences mêmes nous ont incitée à entreprendre cette étude dans l'intention :

- d'une part de préciser la nature des anomalies de l'hémostase ;
- d'autre part d'en analyser les mécanismes en tenant compte des rôles respectifs du conflit immunologique et de l'hémolyse intravasculaire.

INTRODUCTION

-:-:-:-:-

HISTORIQUE ET DONNEES

ACTUELLES

-:-

RAPPEL DES PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES

DE L'HEMOSTASE

-:-

I - HISTORIQUE ET DONNEES ACTUELLES DU PROBLEME.

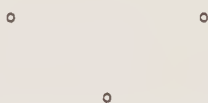
On sait depuis longtemps que la transfusion de sang incompatible engendre des réactions fréquemment mortelles (DENIS 25 ; BLUNDELL 15 ; PONFICK 128). Les progrès accomplis dans l'identification des groupes sanguins chez l'homme rendent ces accidents beaucoup plus rares. Cependant ils se produisent parfois, soit à la suite d'une erreur, soit en raison de la présence d'un anticorps peu fréquent.

L'hypotension artérielle, l'hémolyse intravasculaire et, dans certains cas, la tendance hémorragique sont les témoins immédiats de cet accident (MUIRHEAD 111 ; FRIESEN 41 ; MOORE 109 ; KIESSMEYER-NIELSEN 71). Dès le premier jour apparaissent des troubles rénaux qui se manifestent par une anurie, une élévation de l'azotémie (MUIRHEAD 111 ; FUNCK-BRENTANO 42 ; MOULLEC 110). Il s'agit d'une tubulopathie aigüe, susceptible de guérir sans séquelles si l'on peut, grâce à l'hémodialyse, attendre, vers le 15ème jour, la reprise de la diurèse (JUTZLER 66).

L'analyse du ralentissement de la coagulation est souvent fragmentaire. Hormis la thrombopénie, les résultats sont peu convergents. Des diminutions des taux de prothrombine, d'accélélerine, ou de fibrinogène sont signalées (KREVANS 75 ; MOORE 109). Un anticoagulant est parfois décelé (KREVANS 75). Les remarques de MUIRHEAD (111) et de FRIESEN et coll. (41) laissent supposer qu'il pourrait s'agir d'héparine car le bleu de toluidine et le sulfate de protamine corrigent in vitro et parfois in vivo l'hypocoagulabilité sanguine. La prévention des troubles rénaux par un traitement à l'héparine (STORTI 151) suggère que la

formation de microthromboses est à l'origine à la fois de la défaillance rénale et des modifications de la coagulation sanguine. FUNCK - BRENTANO (42) distingue chez l'homme deux sortes de troubles de la coagulation. Le syndrome hémorragique précoce serait dû à une protéolyse. Les hémorragies plus tardives, contemporaines de la phase d'anurie, auraient une origine différente.

Ces observations sont d'interprétation délicate en raison des conditions dans lesquelles a été pratiquée la transfusion. Ainsi, les réactions observées chez les sujets conscients sont parfois minimales car la transfusion est arrêtée dès les premiers malaises (VOGEL 159). Les accidents hémolytiques survenus en cours d'opération paraissent plus graves (FUNCK-BRENTANO 42)



Chez le chien, des accidents comparables ont été observés fortuitement, lors de circulations croisées ou extracorporelles. Ce sont surtout les modifications circulatoires qui ont attiré l'attention des expérimentateurs car, pour ces expériences, les animaux sont généralement héparinés. Le mélange de sang entraîne parfois des hypotensions transitoires qui sont d'autant plus fréquentes que les animaux sont de race pure (DILLON 27 ; HAMER 54 ; MELNICK 105). Au cours de l'irrigation sélective de certains organes, MALMEJAC (96 - 98) a pu observer certaines réactions locales à l'apport de sang homologue incompatible. Au niveau de la surrénale irriguée in situ, il constate une réduction de la sécrétion médullaire qui persiste une à deux heures après le début de l'accident tensionnel. Au niveau de la peau se produisent une vasodilatation

et un œdème. Il faut remarquer que les auteurs ont davantage cherché à remédier à ces troubles plutôt qu'à en approfondir l'étude. L'une des méthodes utilisées dans ce but consiste à injecter à l'animal receveur une petite quantité de sang du donneur une à deux heures avant la réalisation des anastomoses vasculaires. En cas d'incompatibilité sanguine cet échange déclenche des modifications qui auront disparu et qui ne se reproduiront pas au moment de l'établissement de la circulation croisée. Cette technique repose sur les caractères transitoires et tachyphylactiques des troubles circulatoires. En effet les anticorps sont mobilisés par l'injection préliminaire et ne risquent pas de perturber ultérieurement le déroulement de l'expérience.

Les recherches expérimentales se sont développées dans les directions correspondant aux préoccupations cliniques. Les investigations ont porté sur les modifications de la coagulation, sur les aspects du choc et sur les répercussions rénales de la transfusion incompatible.

Nous examinerons d'abord les procédés utilisés pour la réalisation de ce choc transfusionnel hémolytique expérimental. Les travaux d'OTTENBERG (123) et de MELNICK (105) ont montré qu'il existe des différences antigéniques entre les érythrocytes de chien. SWISCHER (152) a repertorié sept systèmes de groupes sanguins parmi lesquels le système A paraît le plus important. En effet les isoagglutinines naturelles que l'on rencontre sont le plus souvent de type anti-A. Toutefois, il est rare d'observer des accidents dès la première transfusion car cet anticorps spontané est peu fréquent et son titre est faible. L'isoimmunisation vis à vis de l'antigène A entraîne la formation d'une agglutinine immune qui a la propriété de fixer le complément et de lyser in vitro et in vivo les hématies A-positif. Chez les animaux fortement sensibilisés,

l'injection de sang A₂ positif déclenche un choc accompagné de troubles respiratoires, de vomissements et de défécation. Une hémolyse, une thrombopénie et une leucopénie lui sont toujours associées. Il est donc possible de transfuser au chien du sang incompatible de même espèce. Ce moyen, le plus proche des conditions de l'accident transfusionnel humain, a été utilisé par YOUNG (164), YUILE (165), LANGDELL (82) et DOSNE (28). Il exige une préparation des animaux ; les résultats sont aléatoires lorsque des chiens de groupe sanguin donné n'ont pas été auparavant sélectionnés. C'est pourquoi des expérimentateurs ont eu recours à du sang incompatible d'une espèce animale différente de celle du receveur (FRIESEN 41 ; Mc KAY 104 ; HARDAWAY 55 ; PIFER 127 ; GUERRA 50). C'est le sang humain qu'on a le plus souvent choisi. La comparaison entre les deux procédés, transfusions hétérologues ou homologues, est malaisée car les titres d'agglutinines sont rarement mentionnés.

Les résultats concernant la coagulation sanguine sont concordants quant au fait global : l'hypocoagulabilité et la thrombopénie sont signalées par tous les auteurs. Les avis divergent quant à la nature des autres troubles. Selon YOUNG (164) et Mc KAY (104) le taux de prothrombine diminue ; d'après PIFER (127), il reste normal. La concentration du fibrinogène est modérément (LANGDELL 82), ou fortement abaissée (HARDAWAY 56). Les effets correcteurs d'antagonistes de l'héparine, tels que le bleu de toluidine et le sulfate de protamine, suggèrent qu'un anticoagulant de nature héparinique est présent (FRIESEN 41 ; Mc KAY 104). Enfin, une activité fibrinolytique est mentionnée par Mc KAY (104).

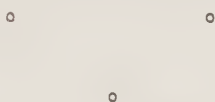
Une interprétation susceptible de rendre compte des troubles de la coagulation est proposée par HARDAWAY (55 - 56). Ses observations

histologiques révèlent la présence de microcaillots formés de plaquettes et de fibrine dans les vaisseaux du foie et des poumons chez les chiens ayant subi une transfusion incompatible très importante. Il considère que les déficits en plaquettes et en fibrine sont dus à leur "consommation" au cours d'un processus de coagulation intravasculaire. Cet auteur a consacré de nombreux travaux à la coagulation intravasculaire diffuse (57). Elle pourrait survenir dans des situations diverses caractérisées par des lésions cellulaires. Cette coagulopathie de consommation est cependant difficile à déceler au simple examen du syndrome biologique. Celui-ci présente en effet de grandes similitudes avec les troubles consécutifs à une fibrinolyse aigüe. La recherche de critères spécifiques permettant de les distinguer reste une préoccupation actuelle malgré l'abondance des publications à ce sujet, car du diagnostic dépend le choix d'une thérapeutique judicieuse. L'efficacité de l'héparinothérapie est, à posteriori, un argument favorable à la coagulation intravasculaire dont la valeur est reconnue par les cliniciens et les expérimentateurs. La formation de microthromboses est alors théoriquement peu conciliable avec la présence d'héparine endogène. Cette contradiction est un point discutable de la théorie proposée par HARDAWAY.



Les répercussions rénales de la transfusion de sang incompatible chez le chien sont minimales selon YUILE (165). Elles se manifestent par une légère augmentation de l'urée sanguine et une diminution modérée de la filtration glomérulaire. ATIK et coll. (7) parviennent aux

mêmes conclusions mais précisent qu'une lésion rénale survient lorsque la transfusion incompatible succède à un choc hémorragique. Les troubles rénaux paraissent plus fréquents lorsqu'on injecte rapidement une grande quantité d'hématies ou lorsque les chiens sont préalablement sensibilisés (BARRY 8).



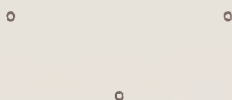
Des analogies entre le choc transfusionnel et le choc anaphylactique ont été signalées à plusieurs reprises. Elles concernent les modifications cardiovasculaires, les réactions vasomotrices locales et les répercussions mastocytaires.

EYQUEM (32) a remarqué que les chiens soumis à une immunisation vis à vis d'hématies homologues montrent parfois des signes de choc anaphylactique (agitation, incontinence, perte de conscience) que l'administration préalable d'antihistaminique peut atténuer et même supprimer.

Par contre BINET (13) signale que le choc transfusionnel déclenché chez le chien par l'injection d'hématies humaines persiste après un traitement antihistaminique. Cette observation rejoint les constatations faites par REUSE (136) sur le choc anaphylactique. Ces résultats ne permettent pas de réfuter une libération d'histamine car, ainsi que le mentionne REUSE, les antihistaminiques ne peuvent abolir complètement les effets hypotenseurs de l'histamine chez le chien. Il semble, qu'à l'instar du choc anaphylactique (MALMEJAC 95), la stagnation du sang dans le territoire porte contribue au choc transfusionnel hémolytique (BINET 13).

L'injection de sang incompatible et celle d'antigène spécifique ont sur la peau et sur la surrénale irriguées, des effets comparables (MALMEJAC 97 - 99 - 100 - 101) qui sont d'ailleurs superposables à ceux de l'histamine.

Les travaux de ARCHER (3) confirment que la réaction antigène - anticorps et l'hémolyse immunologique provoquent les mêmes modifications mastocytaires. L'antigène, qu'il s'agisse d'albumine ou d'hématies humaines déclenche, en présence de l'anticorps spécifique, la rupture des mastocytes péritonéaux du rat et la libération d'histamine. Dans les deux conditions, la présence du complément s'avère indispensable à la dégranulation mastocytaire.



La complexité de ces résultats est due en partie à l'existence de plusieurs facteurs étiologiques. En effet, on peut distinguer, d'une part la formation du complexe antigène-anticorps, d'autre part l'hémolyse intravasculaire. Chacun d'eux peut altérer la coagulabilité sanguine mais par des mécanismes différents :

- le conflit immunologique tel qu'il a été étudié dans le choc anaphylactique entraîne une thrombopénie, une activation de la fibrinolyse et, dans le cas particulier du chien, l'apparition d'héparine. (LEE 88 ; ZUNZ 167 ; JAKES 65 ; ADAMS 1 ; BLOMBACK 14).

- l'hémolyse intravasculaire peut, dans certaines conditions, activer la coagulation sanguine dans le lit vasculaire. Il en résulte un

appauvrissement en facteurs nécessaires à la coagulation du sang affectant plus particulièrement les plaquettes, le fibrinogène (Facteur I), l'accélélerine (Facteur V) et le facteur antihémophilique A (Facteur VIII). La fibrine formée dans les vaisseaux est ultérieurement lysée et donne naissance à des fragments qui inhibent la coagulation (NELSON 112 ; DOSNE 29 ; RABINER 133). Ces modifications sont supprimées par l'administration préalable d'héparine (LAMBERT 79).

La simultanéité de ces deux agressions, conflit immunologique et hémolyse intravasculaire, soulève un problème délicat car leurs répercussions sur la coagulation s'opposent partiellement.

Nous fondant sur ces données, nous avons envisagé, dans ce travail, deux orientations principales :

1° - préciser la nature des principales modifications de la coagulation ;

2° - établir des rapports éventuels entre ces réactions et une coagulation intravasculaire. Dans cette perspective, nous avons analysé le rôle de l'héparine sur l'évolution de certains facteurs de l'hémostase.

Dans la dernière partie, nous avons regroupé diverses données expérimentales en vue d'intégrer les mécanismes responsables de l'hypo-coagulabilité sanguine aux réactions générales de l'organisme déclenchées par l'apport d'hématies incompatibles.

Avant d'exposer les résultats de nos recherches personnelles, il nous a paru utile de rappeler brièvement les événements qui se succèdent au cours de la coagulation normale du sang afin de situer les étapes que nous avons explorées.

II - RAPPEL DES PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES DE L'HEMOSTASE.

L'hémostase fait intervenir de nombreux mécanismes qui permettent d'arrêter l'écoulement du sang lorsque la paroi vasculaire est lésée. Au niveau du vaisseau endommagé se produisent des modifications qui aboutissent à une vasoconstriction, au ralentissement circulatoire et à la libération de substances tissulaires. Les plaquettes sanguines s'agglutinent, subissent des remaniements protoplasmiques ("la métamorphose visqueuse") et forment un clou ou thrombus blanc qui constitue la première barrière à la fuite sanguine. Simultanément commence la coagulation qui aboutit à l'édification d'un caillot sanguin. Celui-ci acquiert peu à peu des propriétés mécaniques particulières qui lui permettent de résister à certaines forces de traction et d'étirement et de se maintenir en place. Ultérieurement il est lentement dissout. Ainsi sont arbitrairement définis les cinq temps de l'hémostase, vasculaire, plaquettaire, plasmatique, de structuration et de lyse. C'est sur les trois dernières phases que nous insisterons.

I - LA COAGULATION SANGUINE

Elle se déroule grâce à une succession de réactions qui aboutissent à la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble. Dans les conditions normales, ceci ne se produit qu'à l'extérieur des vaisseaux et dans un délai donné. Dans certaines situations, la coagulation peut être trop lente pour s'opposer à la déperdition du sang ; il en résulte un syndrome hémorragique. Inversement, il peut arriver que la coagulation s'active dans le lit vasculaire entraînant la formation de thromboses individualisées ou de microthromboses disséminées qui compromettent la circulation sanguine. L'équilibre entre la fluidité et la

coagulation dépend d'interactions enzymatiques complexes car tous les éléments nécessaires à la coagulation sont présents dans le plasma sous une forme inactive.

On distingue trois étapes dans la coagulation du sang :

- La dernière phase est la transformation du fibrinogène en fibrine sous l'action de la thrombine ;
- Cet enzyme existe dans le plasma sous forme d'un précurseur, la prothrombine qui est activée par la thromboplastine active (ou prothrombinase) ;
- Cette thromboplastine résulte d'une cascade de réactions amorcées par deux stimuli : le contact avec certaines surfaces ou l'apport de lipoprotéines tissulaires.

1 - La thromboplastinoformation

Elle peut se réaliser de deux façons :

- Par mécanisme endogène lorsque seuls les facteurs plasmatiques interviennent ;
- Par mécanisme exogène lorsque des substances tissulaires y participent.

a - La thromboplastinoformation endogène

Le contact du sang avec une surface mouillable provoque une modification du facteur de Hageman qui active alors le facteur de Rosenthal (facteur prothromboplastique C). Ce dernier déclenche, en présence de calcium ionisé, l'activation successive des facteurs antihémophiliques B, puis A. Il en résulte la formation d'un produit intermédiaire qui, en présence de calcium ionisé, du facteur plaquettaire 3, de l'accélélerine et du facteur de Stuart, donne naissance à la prothrombinase.

Ces réactions se déroulent en 5 à 6 minutes.

b - La thromboplastinoformation exogène

L'apport de lipoprotéines tissulaires peut activer la coagulation par un mécanisme légèrement différent auquel participe l'activation de la proconvertine.

Cette étape dure environ 2 minutes.

2 - La thrombinoformation

Sous l'action de la prothrombinase, la prothrombine se transforme, en quelques secondes, en thrombine.

3 - La fibrinoformation

Cette courte étape (5 à 6 secondes) est la mieux connue de la coagulation.

La thrombine hydrolyse quatre liaisons peptidiques arginine - glycine du fibrinogène. Quatre fibrinopeptides sont libérés ; deux sont de type A (alanine en position terminale) ; les deux autres sont de type B (noyau pyrrolidone en position terminale). Ces fragments dont le poids moléculaire est voisin de 2 000, possèdent des propriétés physiologiques dont l'importance est mal définie : ils provoquent une contraction des muscles lisses qui peut être observée sur l'utérus et sur les vaisseaux pulmonaires.

La molécule de fibrinogène ainsi amputée constitue le monomère de fibrine. Par attraction électrostatique, ces monomères s'accroissent dans le sens longitudinal et transversal. Cette polymérisation est assurée par des liaisons hydrogène. Elles sont labiles et peuvent être facilement rompues par l'urée ou l'acide monochloracétique. C'est l'état que l'on qualifie de "fibrine soluble".

Le polymère se consolide grâce à l'intervention du "facteur stabilisant de la fibrine". Celui-ci, après avoir été activé par la thrombine en présence de calcium ionisé, renforce la cohésion des molécules par des liaisons interpeptidiques. Sa présence est indispensable à l'édification d'un caillot de fibrine dite "insoluble".

II - LA STRUCTURATION ET LA RETRACTION DU CAILLOT.

Ces deux phénomènes dépendent de la présence de plaquettes intactes. En leur absence les fibres de fibrine se répartissent de façon anarchique. En présence de ces éléments figurés, les fibres s'organisent en un réseau aux mailles serrées dont les nœuds sont occupés par les plaquettes. Il est admis que les plaquettes émettent des pseudopodes qui attirent les fibres en voie de formation donnant ainsi au reticulum une structure particulière dont certaines propriétés physiques sont étudiées par thrombélastographie. Cette méthode explore la résistance des fibres à l'étirement ; celle-ci est matérialisée par l'amplitude des diagrammes.

La contraction des prolongements plaquettaires entraîne, en une heure, la rétraction du caillot. On l'attribue aux propriétés contractiles d'une protéine des plaquettes, la thrombosthénine. La rétraction du caillot s'accompagne de l'exsudation du sérum. Ce liquide est dépourvu de facteur antihémophilique A et d'accélérine. La concentration de la prothrombine résiduelle y diminue rapidement. Le facteur antihémophilique B, la proconvertine et le facteur de Stuart restent présents.

III - LA LYSE DU CAILLOT

Il se dissout lentement sous l'action d'un enzyme protéolytique, la plasmine. Elle provient d'un précurseur inactif, le plasminogène qui est absorbé à la surface du fibrinogène. C'est une euglobuline qui est activée par des kinases plasmatique et tissulaires.

La plasmine scinde la fibrine en fragments de plus en plus petits. Certains des produits intermédiaires conservent les caractères immunologiques de la fibrine et du fibrinogène. Ils possèdent une activité inhibitrice sur la coagulation qui s'exerce sur la génération de la thromboplastine, sur l'activité enzymatique de la thrombine et sur la polymérisation de la fibrine.

Il faut signaler que la plasmine peut également dégrader le fibrinogène, l'accélérine et le facteur antihémophilique A.

Il existe des inhibiteurs naturels, antiactivateurs et antiplasmines, qui s'opposent à la digestion précoce de la fibrine. Les substances chimiques les plus utilisées dans ce but sont l'acide epsilon aminocaproïque et les antipeptidases parotidienne et pancréatique.

La lyse du caillot s'effectue en 70 heures environ.



Pour terminer, nous rappellerons qu'il existe plusieurs inhibiteurs naturels de la coagulation. Parmi les inhibiteurs acquis, nous mentionnerons l'héparine qui interfère avec l'activation du facteur de Hageman, avec la thrombinoformation et avec la fibrinoformation. L'antithrombine VI de NIEWIAROWSKI comprend, en fait, plusieurs fragments provenant de la lyse du fibrinogène ou de la fibrine qui, selon leur nature, inhibent les fonctions plaquettaires, la formation de la thromboplastine ou la polymérisation de la fibrine.

Notre étude a porté sur les dernières phases de la coagulation, thrombinoformation, fibrinoformation et structuration du caillot, qui ont été explorées de façon globale ou différentielle.

Nous avons suivi l'évolution :

- de l'activité du complexe prothrombinique (ensemble comprenant la prothrombine, l'accélélerine, la proconvertine et le facteur de Stuart) en dosant individuellement, si nécessaire, la prothrombine et l'accélélerine ;
- de la concentration du fibrinogène plasmatique ;
- du nombre de plaquettes.

Nous avons recherché :

- des inhibiteurs de la fibrinoformation (héparine et antithrombine VI)
- une activation précoce de la fibrinolyse.

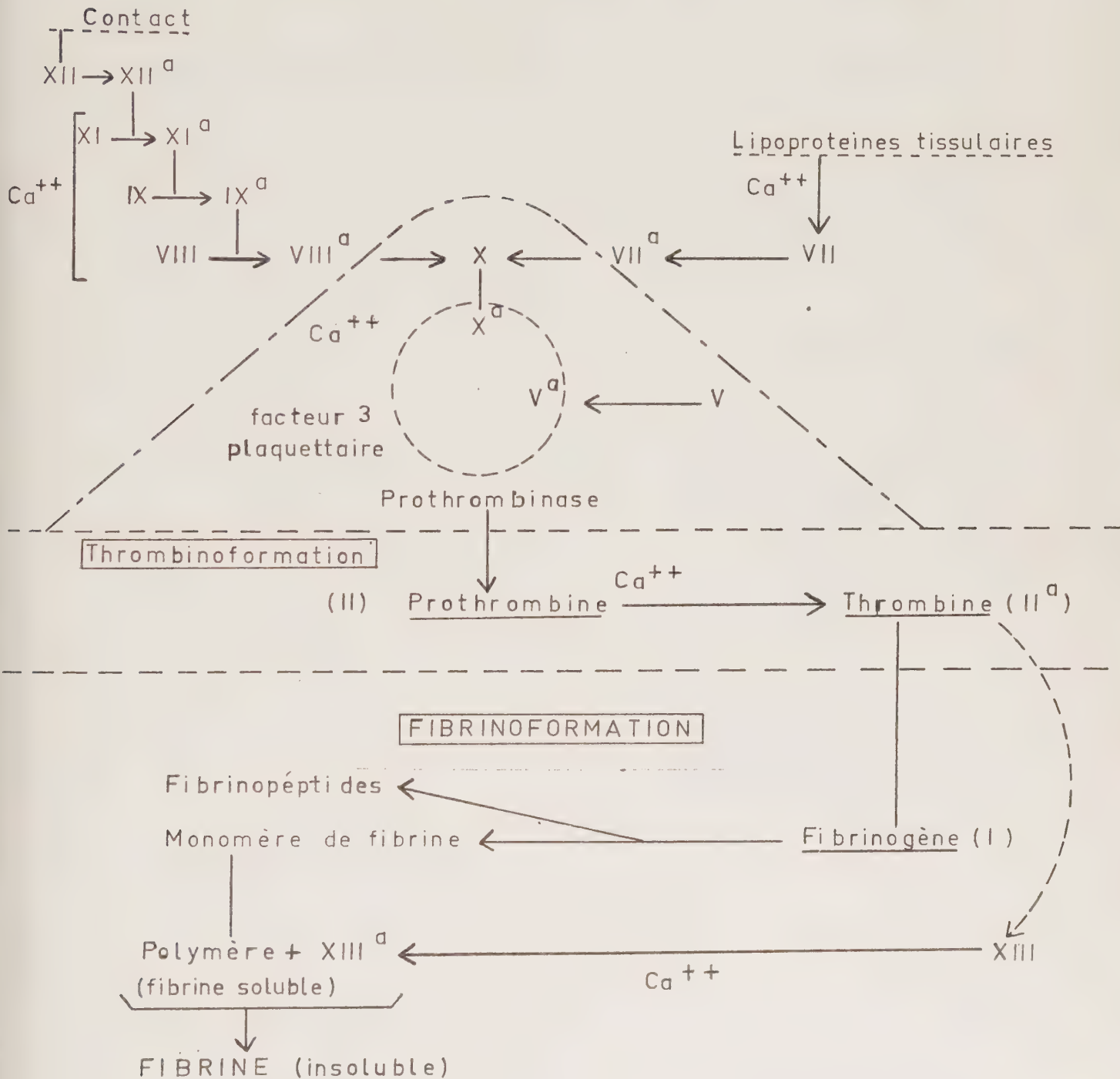
SCHEMA DES PRINCIPALES REACTIONS

DE LA COAGULATION DU SANG

THROMBOPLASTINOFORMATION

Endogène

Exogène



NOMENCLATURE DES PRINCIPAUX

FACTEURS DE LA COAGULATION

<u>Principale dénomination</u>	<u>Synonymes</u>
I Fibrinogène	
II Prothrombine	Thrombozyme ; serozyme
III Thromboplastine tissulaire	Thrombokinasé ; Cytozyme
IV Calcium ionisé	
V Proaccélérine	Facteur Labile ; Ac-globuline
VI Accélérine	
VII Proconvertine Convertine	Facteur stable, Serum Prothrombin Conversion Accelerator (S.P.C.A.) Cothromboplastine
VIII Facteur antihérophilique A	Globuline antihérophilique A
IX Facteur antihérophilique B	Facteur Christmas
X Facteur de Stuart	
XI Facteur de Rosenthal	Plasma Thromboplastin Antécédent (P.T.A.) Facteur prothromboplastique C Globuline antihérophilique C
XII Facteur de Hageman	
XIII Facteur stabilisant de la fibrine.	

PREMIERE PARTIE

METHODES ET TECHNIQUES
UTILISEES DANS NOS RECHERCHES
PERSONNELLES

- : -

I - PREPARATION DES ANIMAUX

Les expériences ont été réalisées sur des chiens de toute race et des deux sexes dont le poids varie entre 9 et 20 kg. Ces animaux ont reçu, par la v. saphène externe, des globules rouges de rats lavés deux fois au soluté physiologique.

Les répercussions de cette agression ont été observées soit pendant une journée, soit pendant une période d'au moins un mois.

Les expériences d'une journée ont été faites sur des animaux anesthésiés au chloralose. La pression artérielle carotidienne est enregistrée au moyen d'un manomètre à mercure, le liquide de contre-pression étant constitué par une solution saline isotonique. Le sang destiné à l'analyse est prélevé par l'artère fémorale dans laquelle est placé un cathéter. Ce procédé facilite l'étude chronologique des réactions immédiates.

Les animaux destinés à une observation de longue durée ont reçu du penthotal par voie intraveineuse puis ont été intubés. L'anesthésie a été entretenue à l'éther pendant une heure environ. Le sang est prélevé à la veine jugulaire au moment du choc et à la veine céphalique d'une patte antérieure les jours suivants. Le prélèvement veineux non traumatisant a cependant l'inconvénient d'être difficile en période d'hypotension et de ne pouvoir être pratiqué toujours au moment prévu.

Au cours de cette expérimentation, nous avons fait varier certaines conditions concernant la quantité d'hématies injectées et le taux d'anticorps des receveurs.

- Un groupe d'animaux a reçu de petites quantités d'hématies variant de 0,4 à 0,8 cm³ /kg ; dans l'autre groupe les injections sont de

1 à 2 cm³ /kg.

- Par ailleurs nous avons utilisé deux catégories d'animaux. Certains n'ont subi aucune préparation, d'autres ont été préalablement sensibilisés.

Chez les chiens non préparés le titre d'agglutinines antiérythrocyte de rat est de 320 en moyenne. Ce titre est compris entre 1200 et 5000 chez 60% des chiens préparés quatre semaines auparavant par une injection intraveineuse d'hématies de rat. Chez ces animaux immunisés, l'injection, en quantité comparable, d'hématies incompatibles déclenche un choc plus important que chez les chiens non préparés. Ce procédé nous a permis d'observer, dans certaines conditions, les répercussions d'hypotension durable sur la coagulation.

Cette préparation commune à tous les animaux a été complétée, pour certains d'entre eux, afin d'analyser le rôle de l'héparine. Dans ce but nous avons examiné les répercussions, sur la coagulation, soit de la suppression de l'héparine endogène libérée pendant le choc, soit, inversement, celles d'un apport préalable d'héparine.

- a - La suppression de l'héparine a été réalisée par différents procédés.

D'une part nous avons utilisé des antagonistes tels que le sulfate de protamine et le polybrène*, d'autre part nous avons empêché l'apparition d'héparine en isolant le foie de la circulation.

- La neutralisation de l'héparine au cours du choc est faite au moyen d'une injection intraveineuse de sulfate de protamine. La quantité d'héparine en circulation est estimée par la technique de SOULIER (149) : on détermine in vitro la quantité minimum de sulfate de protamine permettant la coagulation de 1,5 cm³ de sang en un temps

minimum (nous avons estimé la masse sanguine au 1/10 du poids).

Il est cependant difficile d'ajuster rigoureusement la quantité d'antagoniste à la quantité d'anticoagulant en circulation. Aux imprécisions inhérentes à la détermination de l'héparinémie s'ajoute une autre cause d'erreur : la concentration d'héparine peut in vivo évoluer pendant la durée nécessaire à l'exécution du test (environ 10 à 15 mn).

- L'administration d'antagonistes de l'héparine avant l'injection des hématies incompatibles a un double avantage. Il est possible de s'assurer que la substance utilisée n'a pas d'action secondaire sur la coagulation indépendante de son action antihéparinique. En outre ce procédé permet de neutraliser l'héparine dès son apparition, sans aucun délai.

Nous avons perfusé soit du sulfate de protamine (2,6 à 5,6 mg/kg), soit du polybrène* (2-4 mg/kg) à la vitesse de 1 mg/mn.

- L'exclusion vasculaire du foie est destinée à mettre hors du circuit sanguin les mastocytes hépatiques qui constituent, chez le chien, la principale réserve d'héparine.

La technique utilisée dérive de celle de BOUCKAERT (17).

L'élimination extemporanée du foie n'est possible qu'après dérivation de la circulation porte dans le système veineux de retour. Dans ce but, nous sacrifions le rein gauche et utilisons, comme abouchement cave, la veine rénale. Celle-ci est anastomosée avec la veine splénique, la rate étant elle-même extirpée. Un pont veineux, constitué par un tronçon de veine jugulaire, est établi entre la veine splénique et la veine rénale. Les différentes phases de la préparation sont les suivantes :

- Ligature de l'artère rénale gauche puis de la veine rénale le plus près possible du rein afin d'en conserver un tronçon de plusieurs centimètres.

- Anastomose de la veine rénale (extrémité cave) avec le tronçon jugulaire muni d'une canule de Payr.

- Splénectomie et anastomose de l'extrémité libre du tronçon de jugulaire avec la veine splénique.

C'est seulement après établissement de cette dérivation du sang porte vers la veine cave que la veine porte est liée au niveau du pédicule hépatique sans que la circulation portale ait été contrariée.

La ligature de l'a. hépatique pratiquée ensuite, supprime tout apport de sang au foie.

b - Les injections d'héparine précédant l'administration des hématies de rat sont de 1 mg/kg.

Les expériences effectuées se répartissent ainsi :

	<u>Chiens</u> <u>non préparés</u>	:	<u>Chiens</u> <u>sensibilisés</u>
Injection simple d'hématies de rat :		:	
- 0,4 - 0,8 cm ³ /kg en suspension à 25% dans le soluté physiologique.	3	:	
- 1 - 2 cm ³ /kg en suspension à 60% dans le soluté physiologique	20	:	7
Injection du sulfate de protamine après administration d'hématies de rat (1 - 2 cm ³ /kg)	2	:	1
-----		:	
Perfusion de bromure d'hexadiméthrine (2 - 4 mg/kg) avant injection d'hématies de rat. (1 - 2 cm ³ /kg)	4	:	3
-----		:	
Perfusion de sulfate de protamine (2,6 - 5,6 mg/Kg) avant injection d'hématies de rat (1 - 2 cm ³ /kg)	3	:	2
-----		:	
Injection d'hématies de rat (1 - 2 cm ³ /kg) après exclusion vasculaire du foie	4	:	
-----		:	
Injection d'hématies de rat (1 - 2 cm ³ /kg) après héparinisation des animaux (1 mg/kg)		:	3

II - EXAMENS EFFECTUES

Nous décrirons d'abord les examens concernant la coagulation. Ensuite nous indiquerons les études relatives à d'autres paramètres biologiques.

1 - Exploration de la coagulation

Les modifications de la coagulation ont été étudiées par thrombélastographie (HARTERT⁵⁸), par des tests explorant globalement certaines de ses étapes et par des dosages de différents facteurs.

a - L'aspect global de la coagulation est représenté par le thrombélastogramme réalisé sur sang total natif (prélevé sans anticoagulant). Le diagramme obtenu fournit des indications sur la thromboplastinoformation (temps de latence) et, surtout, sur la structure du caillot (amplitude maxima). Celle-ci dépend du nombre de plaquettes, de la concentration en fibrinogène et du taux du facteur stabilisant de la fibrine.

b - La numération des plaquettes est faite au moyen "d'Unopettes" (dispositif de dilution commercialisé par Becton-Dickinson) (FREUNDLICH 39). La valeur fonctionnelle des plaquettes est appréciée en comparant les amplitudes des thrombélastogrammes de plasma riche en plaquettes (obtenu par sédimentation) et de plasma pauvre en plaquettes (obtenu par centrifugation à grande vitesse). Cette comparaison permet de préciser si les perturbations de la structure du caillot proviennent d'une déficience plaquettaire ou d'un trouble de la fibrinoformation d'origine plasmatique.

c - L'activité prothrombinique globale est estimée par la mesure du temps de Quick (130) effectué avec une thromboplastine qui, en raison de l'addition de bromure d'hexadiméthrine (polybrène*), est peu sensible à l'héparine (Néoplastine STAGO). Les résultats sont exprimés

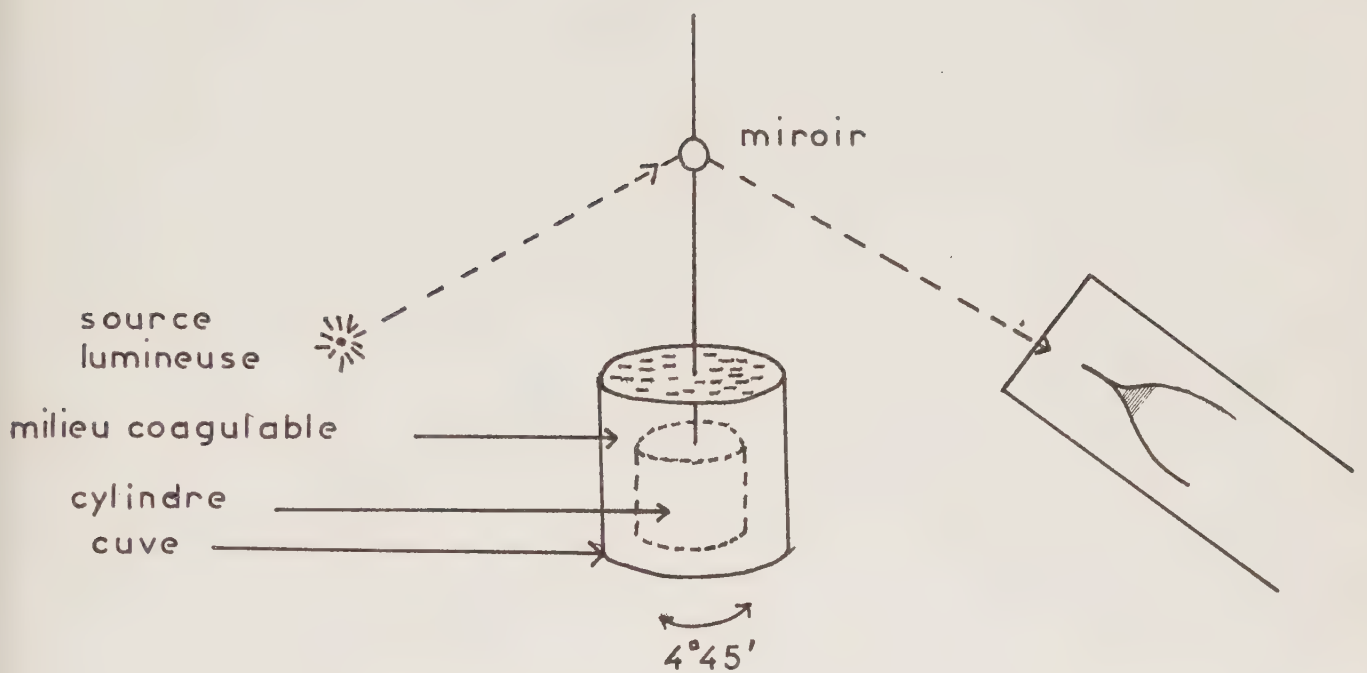
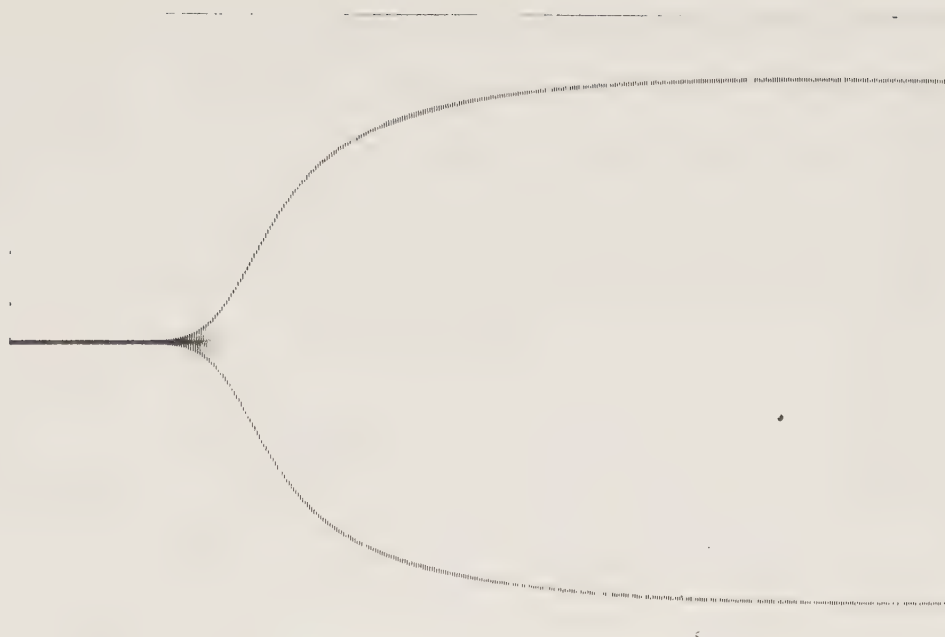


Schéma du thrombélastographe : Un cylindre dont la tige porte un miroir plonge dans une cuve soumise à une rotation alternative de 4° . Le sang (ou le plasma) est placé dans la cuve. Tant qu'il reste fluide, le cylindre n'est pas entraîné par les mouvements de la cuve. Le spot reste donc immobile et trace sur le papier photographique qui se déroule une ligne droite. La formation des fibres de fibrine entre la cuve et le cylindre entraîne la rotation de celui-ci. Il en résulte des déplacements du miroir qui font osciller le spot. La courbe enveloppe représente le thrombélastogramme car seuls les points extrêmes des oscillations impressionnent le papier. L'amplitude dépend des qualités mécaniques du caillot.



Thrombélastogramme normal obtenu sur sang total.

Document photographique original. La netteté de tels documents permet leur publication sous forme de simples calques aisés à reproduire que nous avons disposés les uns au dessous des autres afin de rendre leur présentation plus claire.

en pourcentage de l'activité du plasma témoin prélevé avant toute agression.

Dans les cas où cette activité est inférieure à 50 % de la valeur témoin, la prothrombine et l'accélélerine sont dosées au moyen des réactifs STAGO.

d - La fibrinoformation est contrôlée par la mesure du temps de coagulation du plasma par la thrombine Roche (= temps de thrombine) en diluant cet enzyme de façon à obtenir un temps de 15 secondes environ avec un plasma de chien normal servant de référence (= temps de thrombine"). L'analyse de cette étape comporte le dosage du fibrinogène et la recherche d'antithrombine immédiate.

Le taux de fibrinogène plasmatique est évalué par la micro-méthode de Leclerc (86) en l'absence et en présence d'acide epsilon aminocaproïque afin de tenir compte de l'accélération éventuelle de la fibrinolyse.

En cas d'anomalie du temps de thrombine nous avons recherché une activité antithrombine immédiate en mesurant le temps de coagulation, par la thrombine, d'un mélange à parties égales de plasma normal et de plasma à tester. (Dans certains cas la même technique a été appliquée à la recherche d'antithrombine dans le sérum). Ceci a été fait avant et après chauffage du plasma à tester à 100° C pendant 30 mn afin d'éprouver la résistance de l'antithrombine à la chaleur.

La mise en évidence d'héparine repose sur la thermostabilité de l'antithrombine ; nous avons, en outre, vérifié les effets des antagonistes de l'héparine (bleu de toluidine et sulfate de protamine) sur le temps de thrombine en utilisant le mélange suivant :

- 0,2 cm³ plasma à tester ;
- 0,1 cm³ bleu de toluidine à 0,5 g % ;
- 0,2 cm³ thrombine.

L'estimation du taux de cet inhibiteur est faite en déterminant la plus faible concentration de sulfate de protamine corrigeant le temps de thrombine. Après avoir établi la correspondance entre sulfate de protamine et héparine, nous avons exprimé les résultats en μ g d'héparine par cm^3 de plasma. (L'héparine de référence titre 0,1 u/ μ g).

L'action du bleu de toluidine est contrôlée, par thrombélastographie, en ajoutant cette substance au sang total, aux plasma riche et pauvre en plaquettes, dans les proportions suivantes :

(Les volumes sont exprimés en cm^3) :

bleu de toluidine 0,5 g %	sang total	plasma	CaCl_2 1,29 %
0,05	0,30		
0,05		0,25	0,10

La mise en évidence d'une activité antithrombine due à la présence de produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine formés in vivo par la plasmine (Antithrombine VI) (LATALLO 84 - 85;

NIEWIAROWSKI 114) est basée sur la thermolabilité de l'anticoagulant (KOWALSKI 74) et sur les variations du temps de coagulation du plasma (*) par le FTH 50 (laboratoire Stago). L'action thrombinique de ce réactif extrait du venin de Bothrops Athrox est sensible à la présence d'Antithrombine VI sans être influencée par l'héparine (SORIA 148).

Dans les cas où une telle activité est apparue, nous avons examiné, au thrombélastographe, l'action du plasma pathologique sur la structuration du caillot d'un plasma normal pauvre en plaquettes en mélangeant :

- 0,20 cm^3 plasma normal ;
- 0,05 cm^3 plasma à tester ou de soluté physiologique ;

(*) (" temps de reptilase ").

- 0,10 cm³ CaCl₂ 1,29 %.

La comparaison porte sur l'amplitude des tracés.

La spécificité immunologique commune au fibrinogène et à certains des fragments provenant de sa lyse ou de celle de la fibrine (FERRI 34 ; LARRIEU 83 ; NUSSENZWEIG 122) constitue le principe de l'identification et du dosage de ces produits. Leur estimation est faite selon la technique de MERSKEY (106). On utilise du sérum provenant de sang prélevé en présence d'un inhibiteur de la fibrinolyse (10 mg d'acide epsilon aminocaproïque par cm³ de sang). Cette précaution permet de ne tenir compte que des produits formés in vivo par la plasmine. On ajoute à ce sérum de la thrombine (400 unités NIH pour 0,4 cm³ de sérum) afin d'éliminer, par coagulation, un éventuel fibrinogène non coagulé et de ne conserver que les fragments de dégradation de cette protéine. Le dosage repose sur l'inhibition exercée par les produits ayant l'antigénicité du fibrinogène, mais incoagulables par la thrombine, sur l'agglutination d'hématies sensibilisées au fibrinogène mises en présence d'un immun sérum de lapin antifibrinogène de chien. Les réactifs nécessaires sont préparés au laboratoire. Nous avons exprimé les résultats en µg après étalonnage avec du fibrinogène. En effet, le titre (la plus grande dilution du sérum inhibant d'hémagglutination) n'a qu'une signification relative car la sensibilité du test a varié suivant les lots de réactifs.

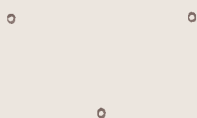
e - Nous avons recherché une activation de la fibrinolyse en suivant l'évolution du temps de lyse des euglobulines. Cette épreuve est sensible à l'abondance des activateurs du plasminogène car les inhibiteurs (antiplasmines et antiactivateurs) sont éliminés lors de la précipitation des euglobulines. Bien que cette méthode ne reflète pas l'équilibre

entre les facteurs de la fibrinolyse, elle présente l'avantage d'une grande sensibilité.

Nous utilisons une technique dérivée de celle de MILSTONE (107). Le plasma est acidifié, au moyen d'acide acétique dilué, jusqu'à un pH compris entre 5,2 et 5,3 puis il est placé 30 mn à 0° C. Chez le chien, le précipité ainsi obtenu ne contient pas d'inhibiteur (GALLIMORE 44). Les euglobulines sont ensuite dissoutes dans un tampon véronal de pH = 7,4 puis coagulées par la thrombine. Nous avons exécuté ce test en tubes de matière plastique car les euglobulines du chien ont tendance, au contact du verre, à coaguler spontanément et à lyser rapidement.

En cas d'hypofibrinogénémie, des euglobulines normales (0,15 cm³) ou du fibrinogène bovin (1mg) ont été ajoutés aux euglobulines à tester (0,10 cm³).

Des indices d'activation précoce de la fibrinolyse sont parfois apparus au cours d'autres investigations. Ainsi le rapprochement jusqu'à réunion complète des branches du thrombélastogramme témoigne d'une lyse accélérée de la fibrine in vitro. Il en est de même lorsqu'on constate une différence nette entre les taux de fibrinogène déterminés en l'absence et en présence d'un inhibiteur de fibrinolyse (l'acide epsilon aminocaproïque).



Le plasma destiné à la thrombélastographie est obtenu soit par sédimentation (plasma riche en plaquettes), soit par centrifugation rapide (plasma pauvre en plaquettes) de sang prélevé sur citrate. Il est

utilisé dans un délai de deux heures.

Le plasma nécessaire aux autres tests de coagulation est obtenu par centrifugation rapide de sang citraté. Il est conservé congelé à -20°C et étudié dans les plus brefs délais après la décongélation.

Les résultats obtenus avant toute agression concordent avec les valeurs normales du chien rapportées par BELLEVILLE (9).

2 - Analyses indépendantes de la coagulation

Elles concernent l'agglutination et l'hémolyse des hématies injectées ainsi que l'évolution du taux d'histamine sanguine pendant le choc.

a - Nous avons vérifié le taux d'agglutinines canines antiérythrocyte de rat. Le mélange suivant a été utilisé :

- $0,3\text{ cm}^3$ d'une dilution de sérum de chien décomplémenté à 56°C ;
- $0,05\text{ cm}^3$ de suspension à 5 % d'hématies de rat lavées trois fois au soluté physiologique.

Le titre correspond à la dilution la plus grande du sérum entraînant une agglutination.

b - Le degré d'hémolyse intravasculaire a été apprécié en dosant l'hémoglobine plasmatique par une méthode ferrocoulométrique (36).

c - Les taux d'histamine mentionnés au cours de ce travail ont été déterminés par spectrofluorimétrie. Nous avons utilisé deux méthodes.

La technique de ZACHARIAE (166) a été appliquée à des échantillons de sang prélevés à intervalles réguliers pendant le choc.

Après hémolyse et défécation du sang, l'histamine est extraite dans la phase alcoolique du butanol puis relarguée sélectivement dans la phase aqueuse de l'heptane. Sa condensation avec l'orthophtalaldéhyde forme un composé dont la fluorescence est mesurée. Ce procédé présente un inconvénient : la longueur des manipulations limite le nombre des dosages. En conséquence, l'évolution de l'histaminémie n'est représentée que par quelques points qui sont parfois insuffisants.

L'analyse automatique réalisée en continu sur Technicon* permet de suivre le phénomène à tout instant de l'expérience (RUFF 142). Une pompe prélève, dans l'artère humérale, à la vitesse de $1,2 \text{ cm}^3/\text{mn}$, du sang qui est hépariné dans la canule de prélèvement. Après hémolyse et dialyse du sang, l'histamine passe dans la phase alcoolique du butanol où elle est condensée avec l'orthophtalaldéhyde. La fluorescence du mélange est enregistrée. L'interprétation des tracés obtenus pose un problème car il existe un mélange constant des échantillons dans la cuve de lecture. Il en résulte un décalage et une dilatation de la courbe dans le temps.

L'analyse continue nous a servi à vérifier la présence ou l'absence de libération d'histamine. Nous avons eu recours à des mesures discontinues pour situer chronologiquement cette décharge et pour en préciser la valeur.

DEUXIEME PARTIE

EFFETS D'UN APPORT
D'HEMATIES INCOMPATIBLES
CHEZ LE CHIEN

- : -

I - EFFETS D'INJECTION D'HEMATIES DE RAT CHEZ LES CHIENS NON PREPARES.

Les animaux utilisés dans ces expériences ont un titre d'agglutinines antiérythrocyte de rat de 300 en moyenne (inverse de la dilution du sérum).

Dès l'injection des hématies incompatibles, la pression artérielle diminue brutalement. Elle se stabilise au voisinage de 7 cm de Hg. Cette hypotension est généralement corrigée en une vingtaine de minutes. (fig. 1).

Les modifications de la coagulation diffèrent considérablement selon la quantité d'hématies administrées.

A - Les faibles quantités d'hématies ($0,4 - 0,8 \text{ cm}^3/\text{kg}$ en suspension à 25 % dans le soluté physiologique) entraînent une augmentation modérée du taux d'hémoglobine plasmatique (jusqu'à 2g/l).

Le thrombélastogramme du sang total présente un raccourcissement du temps de latence t_r et une diminution de l'amplitude maxima a_m (fig. 2 et tableau 1).

Le nombre de plaquettes s'abaisse en moyenne à $50\,000/\text{mm}^3$ (tableau 2).

La thrombino et la fibrinoformation s'effectuent normalement.

Le taux de fibrinogène plasmatique varie de façon inconstante d'un animal à l'autre.

Le temps de lyse des euglobulines est constamment raccourci et un cas de fibrinolyse en trois heures a été observé sur thrombélástogramme après injection de 8 cm^3 de globules rouges de rat . (fig. 3).

L'anomalie de structuration du caillot de sang total est imputable à la thrombopénie car le thrombélástogramme de plasma pauvre en plaquettes atteint la même amplitude que le témoin (tableau 1).

Ces modifications sont réversibles en une heure environ.

Les trois animaux ayant subi ces injections ont survécu plus d'un mois.



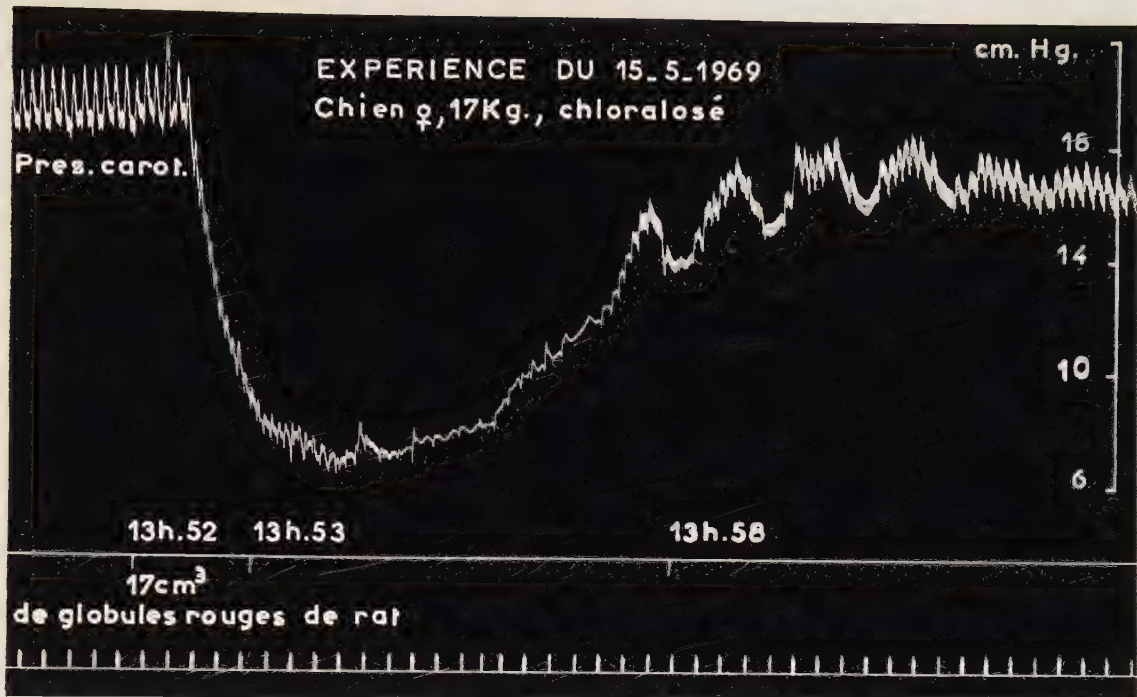


Figure 1

Modifications de la pression artérielle déclenchées, chez un chien non préparé, par l'injection intraveineuse brutale d'hématies de rat.

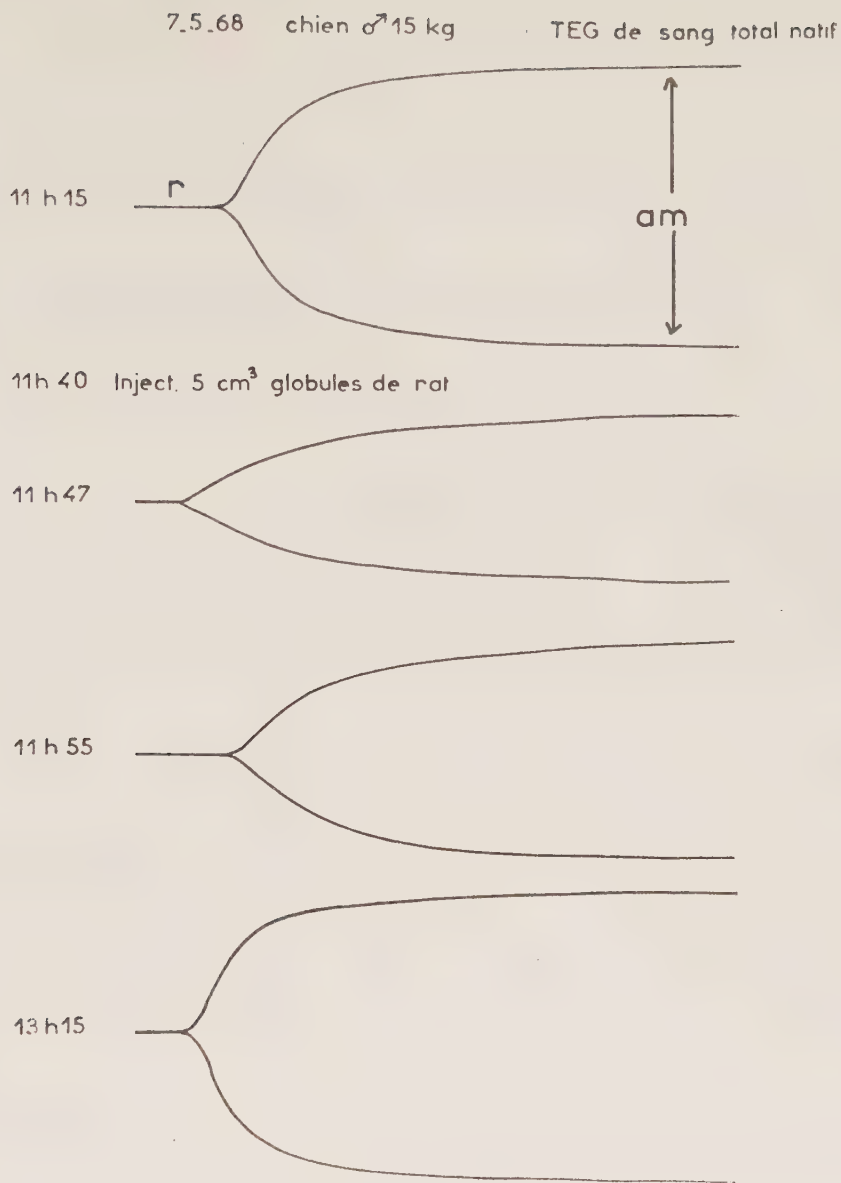


Figure 2

Modifications du thrombélástogramme de sang total après injection d'une petite quantité de globules rouges de rat chez un chien non préparé.

L'injection brutale de 5 cm³ de globules rouges entraîne un raccourcissement du temps de latence (r) et une diminution de l'amplitude maxima (am). Les valeurs de ces paramètres sont précisées dans le tableau 1.

EXPERIENCE DU 7.5. 1968 CHIEN ♂ 15 kg

		<u>Sang total</u>		<u>Plasma pauvre en</u>
		r	am	<u>plaquettes</u>
		(en mn)	(en mm)	am
				(en mm)
Témoïn		11	71	28
5 cm ³ d'hématies de				
rat	11 h 40 →			
	11 h 47	6	41	26
	11 h 55	11	56	
	13 h 15	7	73	

Tableau 1

Evolution des paramètres thrombélastographiques après injection d'hématies de rat chez le chien.

r (temps de latence) et am (amplitude maxima) déterminés sur sang total et sur plasma pauvre en plaquettes.

Ces valeurs correspondent aux tracés de la fig. 2.

EXPERIENCE DU 7. 5. 1969 CHIEN 15 Kg

5 cm³ d'hématies de rat

	témoin	11 h 40	11 h 47	11 h 55	13 h 15
Hb plasmatique (g/l)	0	↓	1,4	1,9	1
Plaquettes / mm ³	400 000		70 000	100 000	350 000
Fibrinogène (g/l)	5,1		5,1	3,3	4,5
T. de thrombine	15 s.		15 s.	15 s.	15 s.
T. de lyse des euglobulines	49 mn		29 mn	18 mn	67 mn
Activité prothrombini- que globale	100%		100 %	100 %	100 %

Tableau 2.

Evolution de quelques paramètres de la coagulation correspondant à l'expérience de la fig. 2.

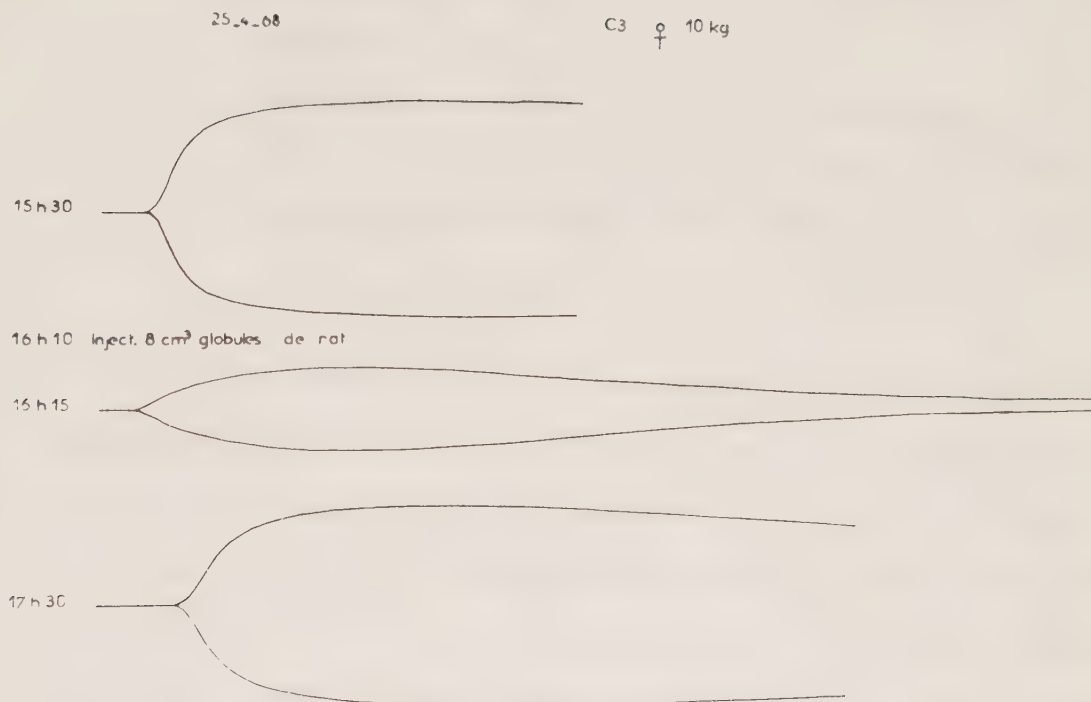


Figure 3

Modifications transitoires du thrombélastogramme de sang total après injection de 8 cm³ de globules rouges de rat chez un chien non préparé.

L'injection effectuée à 16 h 10 entraîne une accélération de la fibrinolyse qui se superpose au raccourcissement du temps de latence et à la diminution de l'amplitude. Ces anomalies ont disparu à 17 h 30.

B - Les injections de quantités plus importantes d'hématies ($1 - 2 \text{ cm}^3/\text{kg}$) en suspension à 60 % dans le soluté physiologique élèvent le taux d'hémoglobine plasmatique entre 4 et 6 g/l.

Nous avons observé trois types de modifications thrombélastographiques :

- La coagulation évolue de la même façon qu'après les faibles injections (2 cas).
- L'évolution est biphasique : un ralentissement de la coagulation succède à la phase d'accélération (4 cas) (fig. 4).
- L'hypocoagulabilité apparaît d'emblée (8 cas) (fig. 5).

Chez un animal le caillot formé a lysé en 60 mn.

Cette variabilité dépend en partie du moment où est fait le prélèvement qui, dans les cas de ponction veineuse, est souvent long ou retardé. Le sang coule difficilement à cause de l'état d'hypotension de l'animal; par ailleurs, immédiatement après l'injection des hématies, le sang coagule très vite dans les aiguilles. C'est dans les conditions de prélèvement artériel qu'on observe le plus souvent les deux phases de modifications thrombélastographiques. Nous les avons analysées séparément.

a - La phase d'accélération de la coagulation présente des modifications analogues à celles observées après les faibles injections d'hématies.

- Altération de la structuration du caillot de sang total (réflé-
tée par la diminution de l'amplitude du thrombélastogramme) ;
- Diminution du nombre de plaquettes ;
- Raccourcissement du temps de lyse des euglobulines.

Ces résultats correspondent au prélèvement de 11 h 00 de l'expérience du 29. 10. 1968 sur la fig. 4 et le tableau 3.

Les mêmes anomalies sont constatées dans les cas où cette période est la seule à apparaître.

EXPERIENCE DU 29. 10. 1968 CHIEN ♂ 13 Kg

	22 cm ³ d'hématies de rat		
	témoïn	10 h 59	11 h 00
Hb plasmétique (g/l)	0		11 h 07
Plaquettes/mm ³	400 000		6,5
Fibrinogène (g/l)	2,2	↓	30 000
T. de thrombine	15 s.		2,2
T. de thrombine en présence de toluidine	15 s.		15 s.
T. de thrombine du mélange :			20 s.
Plasma normal + plasma étudié	15 s.		15 s. 4
T. de reptilase	17 s.		15 s. 4
T. de lyse des euglobulines	2 h 30		17 s.
Produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine (μg/ cm ³ sérum)	0		17 s.
Activité préthrombinique globale	100 %		54 mn
T.E.G. sang total			30 mn
r	9 mn 30		
am (en mm)	53		
		1	64
	100 %	100 %	100 %
		40 mn	13 mn 30
		1	33

Tableau 3

Evolution de quelques paramètres de la coagulation correspondant à l'expérience de la fig. 4

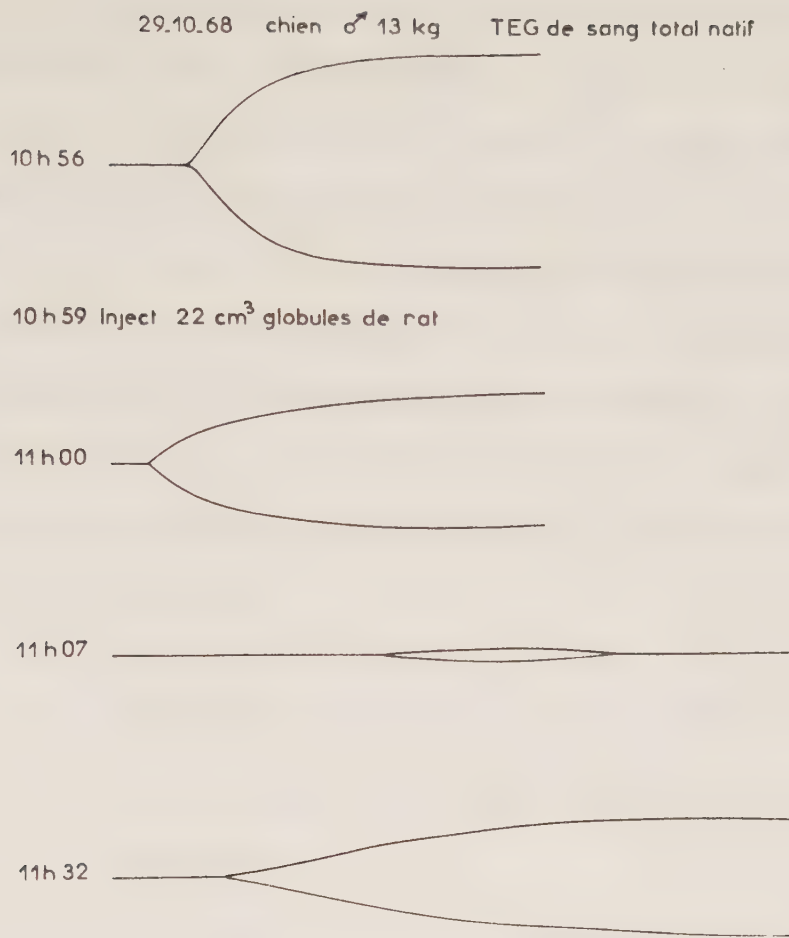


Figure 4

Evolution du thrombélastogramme de sang total après injection d'une quantité importante de globules rouges de rat chez un chien non préparé.

L'injection effectuée à 10 h 59 entraîne une accélération de la coagulation rapidement suivie d'un ralentissement important. Dans le cas présenté ; une fibrinolyse s'ajoute à ces troubles (11 h 07). Les valeurs des paramètres thrombélastographiques sont précisées dans le tableau 3.

b - Pendant la phase d'incoagulabilité le nombre de plaquettes est toujours faible (entre 20 000 et 40 000/mm³) ; l'activité prothrombinique globale reste normale. Par contre l'allongement du temps de thrombine traduit une perturbation profonde de la fibrinoformation (tableau 4). Ce trouble n'est pas dû à un déficit en fibrinogène dont la concentration plasmatique demeure compatible avec une coagulation normale. L'allongement du temps de coagulation, par la thrombine, du mélange de plasma à tester et de plasma normal, témoigne de la présence d'une activité antithrombique immédiate. Cet inhibiteur de la fibrinoformation possède les caractères suivants :

- il résiste à un chauffage de 30 mn à 100° C ;
- il est neutralisé par le bleu de toluidine et par le sulfate de protamine ;
- Il n'interfère pas avec l'action thrombique de la reptilase.

Ces propriétés permettent de l'assimiler à l'héparine

Cette antithrombine atteint en quelques minutes sa concentration maximum : 7 µg/ ml de plasma en moyenne (avec cependant une grande variabilité selon les animaux). Elle est éliminée en quelques heures. Le tableau 5 présente deux exemples d'évolution de l'héparinémie différant par la précocité de l'apparition de l'anticoagulant.

21.6.68 chien ♀ 11kg TEG de sang total natif

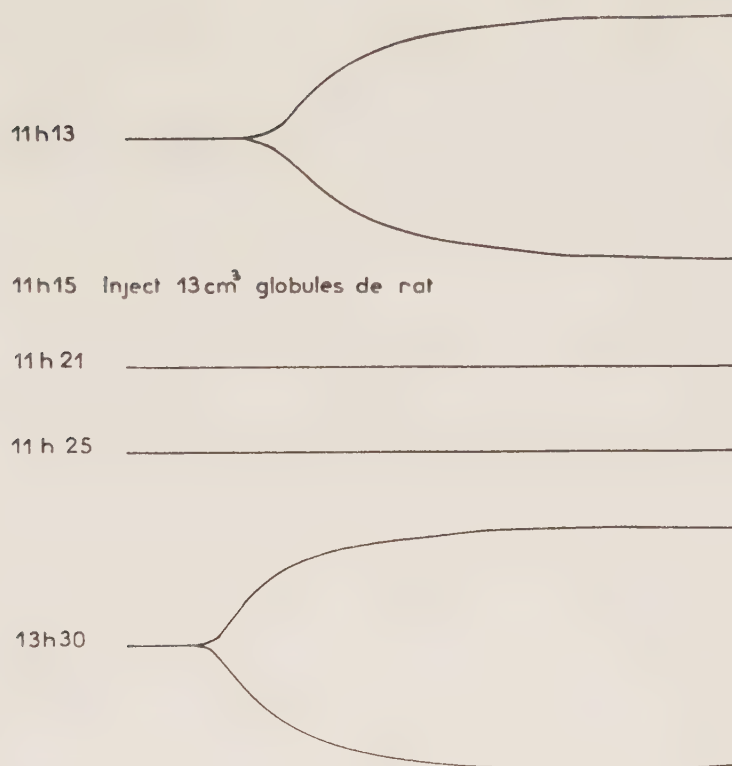


Figure 5

Modifications du thrombélastogramme de sang total après injection d'une quantité importante de globules rouges de rat chez un chien non préparé.

Après l'injection, le sang ne coagule pas. Le tracé redevient pratiquement normal à 13 h 30. Les modifications observées pendant cette période sont précisées dans le tableau 4.

EXPERIENCE DU 21. 6. 1968 CHIEN ♂ 11 Kg

13 cm ³ d'hématies de rat		21. 6. 68		24. 6. 68	
	témoin	11 h 15	11 h 21	11 h 25	13 h 30
Hb plasmatique (g/l)	0		3,5	3,1	0
Plaquettes / mm ³	300 000		30 000	30 000	270 000
Fibrinogène (g/l)	3,8		3	2,2	2
T. de thrombine	14 s.		30 mn.	7 mn.	13 s.
T. de thrombine du mélange :					
plasma normal +					
plasma étudié 20 °C	23 s.		>21 mn.	1 mn 50	
100 °C	23 s.		>21 mn.	49 s.	
T. de thrombine en présence de toluidine	20 s.		23 s.		
T. de reptilase	21 s.		24 s.	24 s.	21 s.
Héparine (μg/ cm ³ plasma)	0		6		19 s.
T. de lyse des euglobulines	5 h.		1 h.	8 h.	8 h.
Activité prothrombinique globale	100 %		100 %	100 %	100 %
T.E.G. sang total :					
r	15 mn.		>120 mn.	>120 mn	10 mn 30
am (en.mm)	65				10 mn.

Tableau 4

Evolution des paramètres de la coagulation correspondant à l'expérience de la fig. 5

Expérience du 14-5-69 ♀ 17 Kgs.

	héparine en $\mu\text{g/ml}$ de plasma
témoin	0
17 cm ³ d'hématies 13 h 52 →	
13 h 53	0,7
13 h 57	3
14 h 12	3
15 h 05	1,5
16 h 00	0

Expérience du 20-6-68 ♀ 13 Kgs.

témoin	0
20 cm ³ d'hématies 11 h 36 →	
11 h 40	0
11 h 52	3
15 h 00	0

Tableau 5

Evolution du taux d'héparine plasmatique après injection d'hématies de rat.

L'action d'un antagoniste de l'héparine sur la coagulabilité globale a été vérifiée (fig. 6) :

- le thrombélastogramme de plasma pauvre en plaquettes est complètement corrigé.
- le thrombélastogramme de plasma riche en plaquettes présente une amplitude semblable à celle d'un plasma privé de plaquettes.
- le thrombélastogramme de sang total reste perturbé, en raison de l'inertie de la masse globulaire.

Ces résultats montrent que l'association d'héparine et d'un déficit en plaquettes détermine l'hypocoagulabilité plasmatique et sanguine.

L'activation du système fibrinolytique observée immédiatement après l'injection des hématies, s'atténue progressivement.

Le taux des produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine est toujours légèrement augmenté quand le temps de lyse des euglobulines est raccourci. Cette augmentation est plus marquée dans les cas de fibrinolyse (tableau 6).

o

o

o

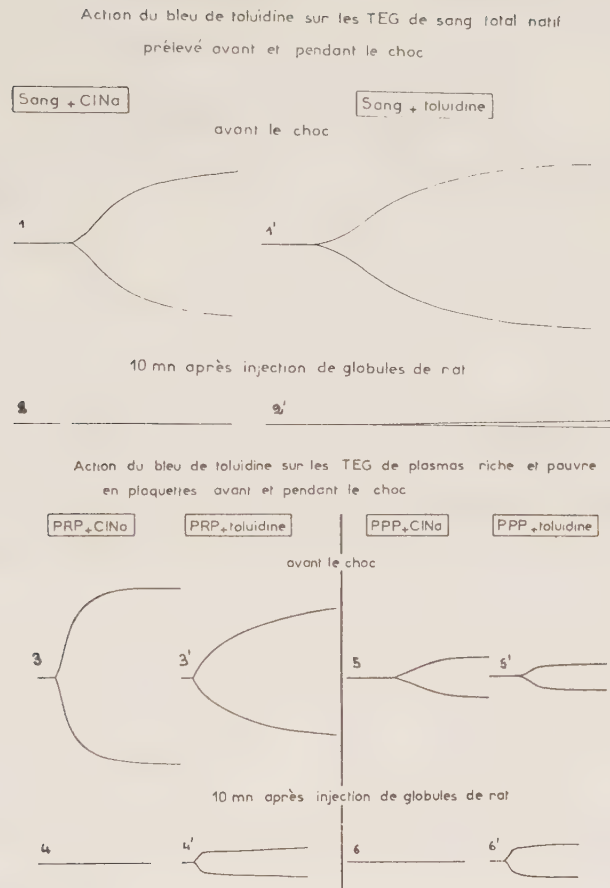


Figure 6

Action, in vitro, d'un antagoniste de l'héparine (le bleu de toluidine) sur le sang prélevé après injection de globules rouges de rat, chez le chien.

Cette action est vérifiée sur le sang total (1'), sur le plasma riche en plaquettes (PRP) (3') et sur le plasma pauvre en plaquettes (PPP) (5'). Le bleu de toluidine est remplacé par du soluté physiologique (Cl Na) dans une série servant de contrôle (1 ; 3 ; 5).

Après injection des hématies de rat, ni le sang (2) ni le plasma (4 ; 6) ne coagulent. Après addition de bleu de toluidine, le sang coagule très lentement (2') ; le thrombélastogramme du plasma riche en plaquettes est amélioré mais son amplitude est faible (4') ; le plasma pauvre en plaquettes coagule plus rapidement qu'avant l'injection (6').

	Produit de dégradation de la fibrine (en $\mu\text{g/ml}$ de sérum)	T. de lyse des euglobulines	lyse du sang total au TEG
Exp. du 25-4-68 ♀ 10 Kgs			
témoin	0	8 h.	
8 cm^3 hématies 16 h 10 → 16 h 15	24	55 mn.	+
Exp. du 24-6-68 ♀ 13 Kgs			
témoin	0	5 h.	
10 cm^3 hématies 10 h 39 → 10 h 41 10 h 49	48 24	14 mn. 30 mn.	+
Exp. du 29-10-68 ♀ 13 Kgs			
témoin	0	2 h 30	
22 cm^3 hématies 10 h 59 → 11 h 00 11 h 07	1 32	54 mn. 30 mn.	+
Exp. du 24-4-68 ♀ 12 Kgs			
témoin	0	47 mn.	
12 cm^3 hématies 16 h 12 → 16 h 22	12	24 mn.	

Tableau 6

Relation entre l'activation du système fibrinolytique et l'augmentation du taux des produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine.

Les 14 animaux maintenus en observation ont survécu plus d'un mois. L'un d'eux a présenté quatre jours après l'injection des hématies, des signes d'ictère ; de nouveaux troubles de la coagulation se sont manifestés dont l'interprétation est difficile : l'activité prothrombinique globale a diminué et il est apparu un inhibiteur n'influençant pas la fibrinoformation. Ces anomalies ont régressé après huit jours de traitement à l'héparine mais il s'agit peut être d'une simple coïncidence. Ces troubles tardifs n'ont pas été observés chez les autres animaux. Ils nous paraissent dépendre de l'état initial de l'animal qui, au départ, avait un sang hypercoagulable et montrait des signes d'hémolyse intravasculaire.

II - EFFETS D'INJECTION D'HEMATIES DE RAT CHEZ DES CHIENS PREALABLEMENT SENSIBILISES

Les résultats rapportés concernent les animaux dont le titre d'agglutinines antiérythrocyte de rat est compris entre 1 200 et 5 000.

L'injection d'hématies de rat (1 - 2 cm³/kg à 60 % dans le soluté physiologique) déclenche une chute tensionnelle importante. Une pression artérielle égale ou inférieure à 5 cm de Hg est fréquente (fig. 7). Les modifications de la coagulation (résumées sur le tableau 7) sont les mêmes que chez les animaux normaux.

On observe :

- une chute du nombre de plaquettes
- la présence d'héparine
- une activation du système fibrinolytique.

Les tracés thrombélastographiques sont souvent rectilignes dès la première minute ; cependant, dans un cas, il s'est écoulé deux minutes avant qu'apparaisse l'incoagulabilité totale.

Trois animaux ont survécu normalement, trois sont morts pendant le choc. Une dilatation des veines mésentériques et une congestion du foie ont été observées à l'autopsie.

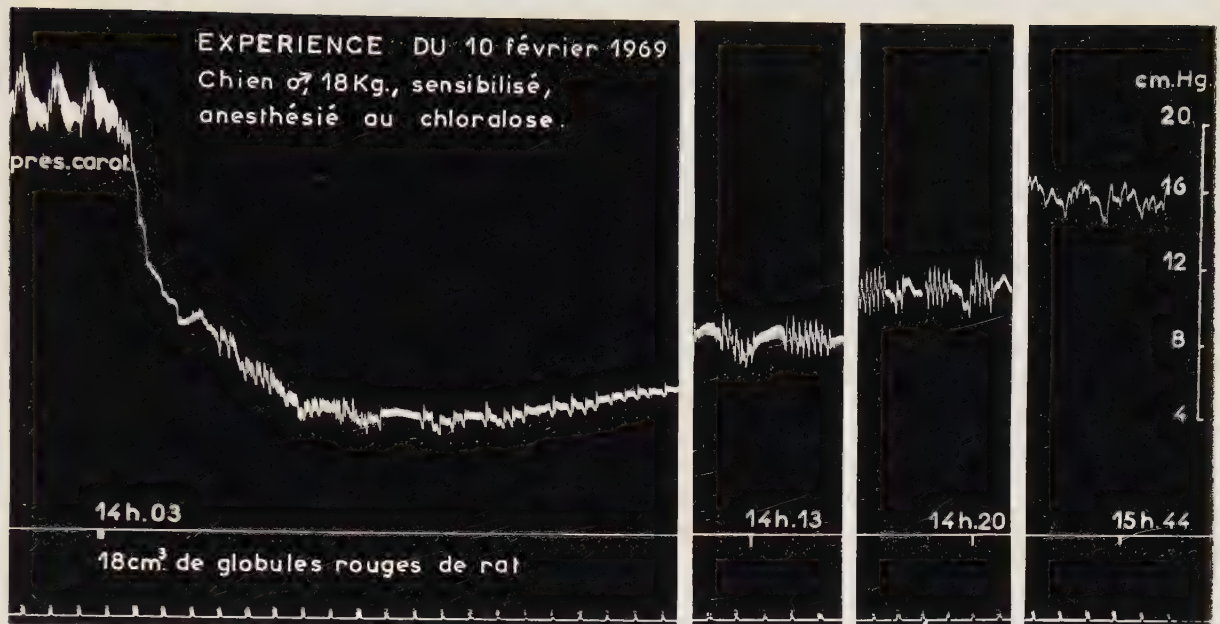


Figure 7

Modification de la pression artérielle déclenchée par l'injection brutale de globules rouges de rat, chez un chien sensibilisé.

Cet animal avait reçu, quatre semaines auparavant, la même quantité d'hématies.

EXPERIENCE DU 15 - 1 - 1969 CHIEN ♀ 15 Kgs CHLORALOSE

	26 cm ³ d'hématies de rat			
	témoin	11 h 04	11 h 05	11 h 09
Hb plasmatique (g/l)	0		1,8	7
Plaquettes / mm ³	500 000		36 000	24 000
Fibrinogène (g/l)	4		4,6	4,6
T. de thrombine	16 s.	↓	>5 mn	>5 mn
T. de thrombine en présence de toluidine	14 s.		14 s.	16 s.
T. de thrombine du mélange :				
plasma normal +				
plasma étudié 20°C	14 s.		50 s.	3 mn 22
100°C	16 s.		22 s.	1 mn 15
T. de reptilase	18 s.		18 s.	18 s.
Héparine (μg/cm ³ plasma)	0		6	12
T. de lyse des euglobulines	6 h		55 mn	39 mn
Produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine (μg/ cm ³ sérum)	2		4	1
Activité prothrombinique globale	100%		90%	90%
T.E.G. sang total :				
r	10 mn		>60 mn	>60 mn
am (en mm)	65			

Tableau 7

Modifications de quelques paramètres de la coagulation chez un chien sensibilisé.

III - DISCUSSION DES RESULTATS

Si la majorité des auteurs observent une hypocoagulabilité sanguine à la suite de transfusions incompatibles, les avis divergent quant à son analyse.

Les modifications que nous avons décelées ne concordent que partiellement avec celles notées par les expérimentateurs, à l'exception de la chute du nombre de plaquettes, unanimement reconnue. Les anomalies de structuration du caillot plasmatique résultant d'une thrombopénie sont bien établies. GREENE (49) montre qu'en l'absence de plaquettes le réseau fibrineux est constitué de fibres épaisses formant de larges mailles. Par ailleurs, les qualités mécaniques d'un tel réticulum, explorées en thrombélastographie, sont diminuées (CAILLARD 20 - LEROUX 90). Cette perturbation est d'autant plus accentuée que la masse inerte des globules rouges est importante par rapport au volume plasmatique (GAERTNER 43 - RABY 134). Ainsi expliquons nous les divergences entre les thrombélastogrammes de sang total et de plasma riche en plaquettes après neutralisation de l'héparine.

Chez le chien, les divergences entre les résultats proviennent, en partie, de la diversité des techniques utilisées pour déclencher le choc transfusionnel et du mode d'exploration de l'hémostase.

L'administration de sang total hétérospecific fait par HARDAWAY (55) et Mc KAY (104) mobilise non seulement les agglutinines antiérythrocytaires mais également les anticorps que le receveur possède vis à vis des protéines étrangères. Or les travaux de NOLF (120)

montrent que l'administration intraveineuse de grande quantité de sérum provenant d'une autre espèce, est suffisante pour déclencher, chez un animal non sensibilisé, un choc accompagné de troubles de la coagulation.

La vitesse d'administration des hématies incompatibles est un autre élément de discordance. La plupart des auteurs utilisent généralement des perfusions, alors que nous procédons par injections brutales afin de déclencher des réactions aiguës, plus facilement identifiables. Cette méthode présente toutefois l'inconvénient de laisser passer inaperçues certaines réactions rapides et brèves. Il en est sans doute ainsi de l'accélération de la coagulation immédiatement consécutive à l'injection et dont l'origine est d'ailleurs discutée. On pourrait incriminer un prélèvement défectueux, contaminé par des substances thromboplastiques tissulaires, s'il ne se manifestait également lors de prélèvements artériels. Pour LEROUX (90) cette hypercoagulabilité cinétique correspond à une génération accélérée de thromboplastines.

L'exploration globale de certaines étapes intermédiaires de la coagulation peut être faussée lorsque la fibrinoformation est perturbée. Ainsi le temps de Quick est allongé en présence d'héparine. Ce fait explique peut-être que HARDAWAY (56) et YOUNG (164) observent une réduction de l'activité prothrombinique globale, qui, selon FRIESEN (41) reste normale.

Nos observations concernant le fibrinogène concordent avec celles de LANGDELL (82) : les diminutions quelquefois constatées sont modérées et sans incidence sur la coagulabilité sanguine. Par contre HARDAWAY (55) constate une hypofibrinogénémie qu'il considère comme la conséquence d'une coagulation intravasculaire. Cette interprétation repose sur l'examen histologique du foie et des poumons : dans les vaisseaux apparaissent des dépôts formés de fibrine et de plaquettes. Cette

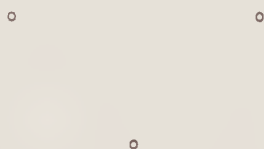
conception paraît difficilement conciliable avec la présence d'héparine, à moins qu'une telle formation intravasculaire de fibrine ne survienne avant l'apparition ou après la disparition de l'héparine. Or, aucune des modifications biologiques sanguines constatées n'est favorable à cette interprétation.

La présence d'héparine, également évoquée par HARDAWAY (56) et FRIESEN (41), rend compte en grande partie du ralentissement de la coagulation. Les allongements minimes du temps de reptilase, notés dans ces conditions, sont conformes à ceux obtenus sur plasma hépariné SORIA (148).

L'augmentation des activateurs du plasminogène, reflétée par le raccourcissement du temps de lyse des euglobulines, est brutale et persiste peu de temps. Elle est probablement à l'origine de l'apparition simultanée, en faible quantité, de produits de dégradation du fibrinogène, qui, à ces concentrations, ne retentissent pas sur l'hémostase. L'accélération du processus fibrinolytique semble n'avoir, chez le chien, qu'un rôle accessoire dans le déterminisme des perturbations de la coagulation.

Chez les autres espèces animales, les résultats sont également divergents. Les observations cliniques, au cours d'accident transfusionnel survenu chez l'homme, font état d'une prothrombinémie tantôt réduite (KREVANS 75), tantôt normale (FRIESEN 41), parfois associée à une hypofibrinogénémie (KREVANS 75 - MOORE 109). Un anticoagulant est parfois décelé mais sa nature n'est pas précisée (KREVANS 75). La correction du temps de saignement, sous l'effet du bleu de toluidine (FRIESEN 41 - MUIRHEAD 111) n'est pas un caractère exclusif de la présence d'héparine. D'autre part cette amélioration est inconstante.

Les renseignements obtenus chez le lapin sont assez différents (GUERRA 50). Malgré la thrombopénie et la diminution de 50% des facteurs V et VIII, la coagulation sanguine est accélérée à la suite de transfusion d'hématies humaines. Ce fait peut être rapproché de l'hypercoagulabilité cinétique que nous observons chez le chien lorsque l'héparine n'est pas présente.



Les résultats de cette étude peuvent se résumer ainsi :

1 - Chez les chiens non sensibilisés, l'injection d'hématies de rat déclenché une hypotension de courte durée. Dans les cas de faibles injections, l'hémolyse intravasculaire reste modérée. On observe simultanément une accélération de la coagulation, une altération des propriétés thrombélastographiques du caillot liée à une diminution du nombre de plaquettes et une activation discrète du processus fibrinolytique.

Après l'administration de quantités plus importantes d'hématies incompatibles, l'hémolyse est plus accentuée. Il se produit un ralentissement considérable de la coagulation qui paraît déterminé par la présence d'héparine endogène et par la thrombopénie.

Ces anomalies disparaissent en quelques heures et les animaux survivent normalement.

2 - Chez les chiens préalablement immunisés, cette agression déclenche un choc important et fréquemment mortel. Les perturbations de la coagulation sont de même nature que celles précédemment décrites mais paraissent plus accentuées. Le décès ne survient que pendant la période d'hypotension. Les animaux ayant survécu au choc ne montrent généralement pas de troubles ultérieurs.

TROISIEME PARTIE

ANALYSE EXPERIMENTALE DU ROLE DE L'HEPARINE

- : -

Cette analyse a été entreprise sous deux formes :

1 - Le premier aspect n'est que le complément de la précédente étude. In vitro, le ralentissement de la coagulation paraît déterminé par deux facteurs : la présence d'héparine et la diminution du nombre de plaquettes. La neutralisation in vivo de l'héparine est destinée à vérifier ces données.

2 - Il est possible que l'héparine endogène s'oppose à une activation intravasculaire de la coagulation. Nous avons tenté d'éclaircir ce point en examinant les effets de la suppression de cet anticoagulant. L'administration d'antagonistes avant le choc et l'exclusion vasculaire du foie ont été pratiquées à cette fin.

Inversement, nous avons précisé quelles sont les répercussions au cours du choc d'un apport d'héparine sur l'évolution des plaquettes et du système fibrinolytique.

I - EFFETS DE LA NEUTRALISATION DE L'HEPARINE REALISEE AU COURS DU CHOC

Cette neutralisation est obtenue par l'injection intraveineuse de sulfate de protamine dont la dose est ajustée à la quantité d'héparine en circulation.

Les trois expériences, que nous avons retenues, montrent que les modifications consécutives à la neutralisation de l'héparine dépendent de l'état de l'hémostase au moment de l'administration de la protamine.

1° - L'expérience du 29. 10. 1968 (fig 8 ; tableau 8) est réalisée sur un chien chloralosé de 13 kg. Après injection de 22 cm³ d'hématies de rat, la pression artérielle s'abaisse à 4 cm de Hg; on observe un ralentissement considérable de la coagulation.

a - Six minutes avant l'injection de protamine la coagulabilité globale est en cours d'amélioration ; le nombre de plaquettes est déjà remonté à 100 000/mm³ ; l'héparine est en voie de disparition.

b - La pression artérielle est revenue à la normale (18 cm Hg) lorsqu'une quantité de 2 mg de protamine est injectée.

c - Six minutes plus tard le thrombélastogramme de sang total montre une accélération de la coagulation : l'amplitude est normale. Le nombre de plaquettes s'est élevé à 120 000/mm³. Le temps de lyse des euglobulines est normalisé.

d - Pendant les trois heures qui suivent on observe une légère tendance à l'hypocoagulabilité et les qualités mécaniques du caillot restent inférieures à celles du témoin. Le fibrinogène plasmatique diminue légèrement. Le nombre de plaquettes ne revient pas tout à fait à la normale. L'élévation du taux des produits de dégradation du fibrinogène, constatée avant l'injection de protamine, s'atténue progressivement.

Ces résultats confirment que la neutralisation de l'héparine corrige, en grande partie, les troubles de la coagulation lorsque le nombre de plaquettes est supérieur à $100\,000/\text{mm}^3$.

2° - L'expérience du 11. 12. 1968 (fig 9 ; tableau 9) est poursuivie sur un chien chloralosé de 10,8 kg auquel 14 cm^3 d'hématies de rat sont injectés. La pression artérielle s'abaisse rapidement à 4 cm Hg.

a - Cinq minutes avant l'injection de l'antagoniste de l'héparine le sang est incoagulable ; on dénombre 50 000 plaquettes par mm^3 ; la fibrinoformation est très ralentie ainsi qu'en témoigne le temps de coagulation du plasma par la thrombine.

b - Au moment de l'injection de 26 mg de protamine, la pression artérielle est remontée à 14 cm Hg.

c - Cinq minutes après la neutralisation de l'héparine, il apparaît une accélération de la coagulation mais les qualités mécaniques du caillot sont réduites. Le nombre de plaquettes est toujours faible.

d - Au fur et à mesure que le nombre de plaquettes s'élève, l'amplitude du thrombélastogramme augmente. Il apparaît quelques heures plus tard une hypocoagulabilité modérée correspondant à un faible allongement des paramètres thrombélastographiques chronologiques.

Les résultats soulignent que le trouble de la coagulation qui persiste est tributaire du déficit plaquettaire.

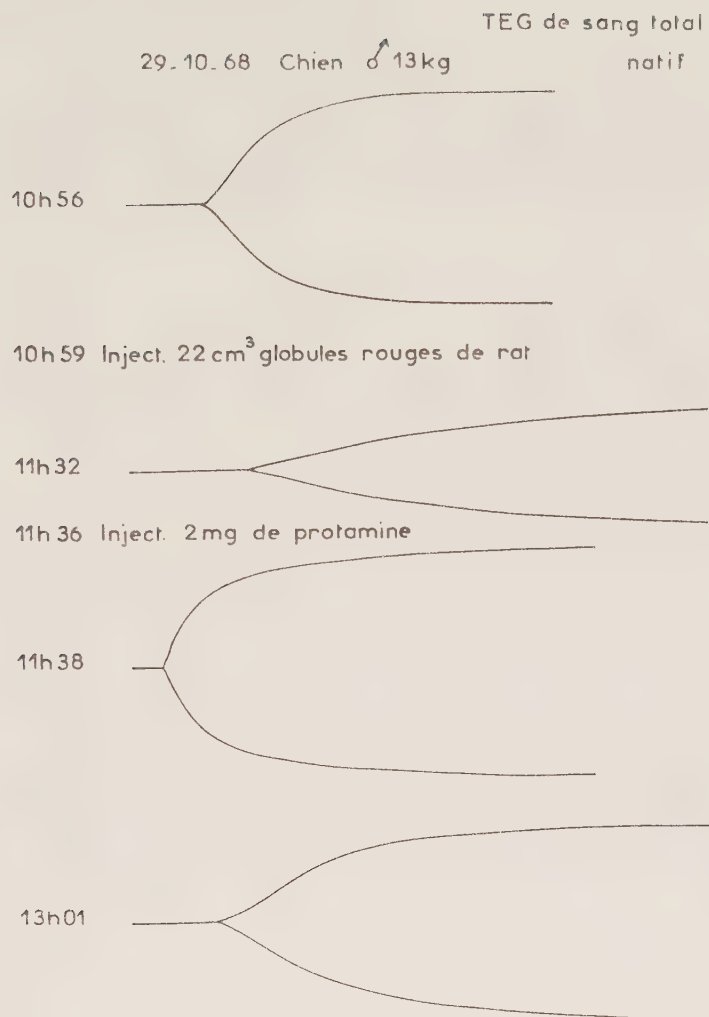


Figure 8

Evolution du thrombélástogramme de sang total après neutralisation in vivo, de l'héparine endogène.

L'injection de 2 mg de sulfate de protamine effectuée à 11 h 36 entraîne une accélération de la coagulation.

Les résultats des examens concernant cette expérience sont précisés dans le tableau 8.

EXPERIENCE DU 29.10.1963 CHIEN 313 Kg

	22 cm ³ d'hématies de rat		2 mg protamine		
	↓	10h 59	11 h 32	11h 35	↓
Hb plasmatique (g/l)	0		5,4	5,9	3,7
Plaquettes /mm ³	400 000		100 000	120 000	150 000
Fibrinogène (g/l)	2,2		2,7	2	1,6
T. de thrombine	17 s.		20 s.	15 s.	16 s.
T. de lyse des euglobulines	2h 30		54mn	90mn	3h00
Produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine (μg/cm ³ sérum)	0		64	64	32
Activité prothrombinique globale	100 %		100 %	100 %	80 %
T.E.G. sang total	9 mn 30		13 mn 30	4 mn 30	10 mn 30
am (en mm)	53		33	61	52

Tableau 8

Modifications de certains facteurs de la coagulation après neutralisation de l'héparine. Ces résultats correspondent à l'expérience de la fig. 8.

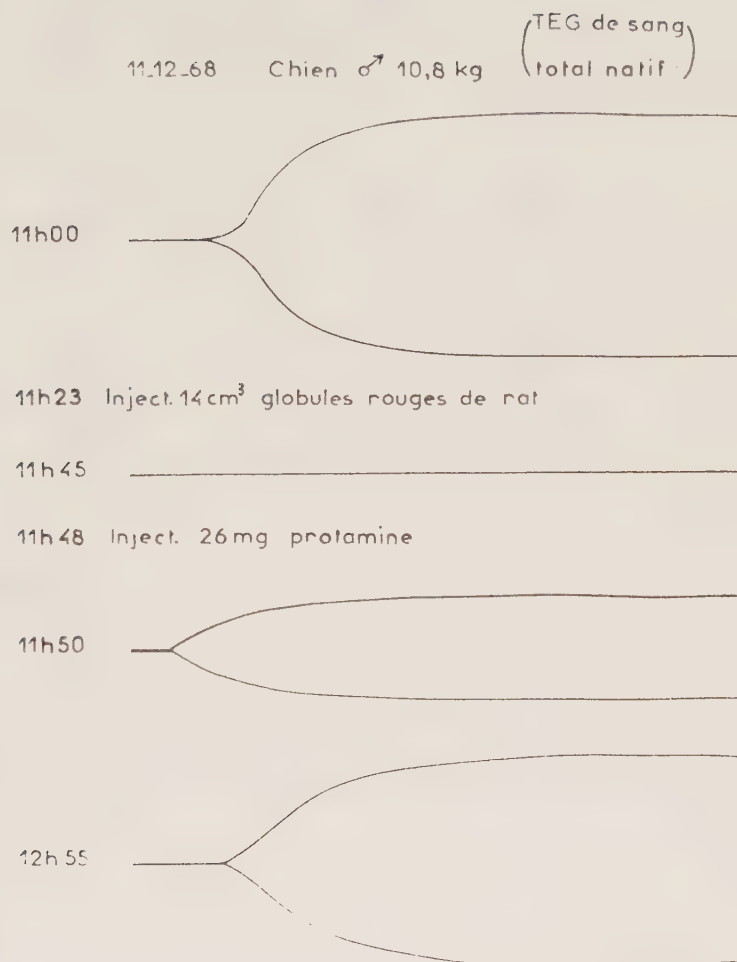


Figure 9

Evolution du thrombélastogramme de sang total après neutralisation, in vivo, de l'héparine endogène.

L'injection de 26 mg de sulfate de protamine corrige le retard de la coagulation et fait apparaître une très nette accélération (11 h 50). Cependant l'amplitude ne revient à la normale qu'à 12 h 55. Les résultats du tableau 9 indiquent que ce trouble est lié à l'insuffisance du nombre de plaquettes.

EXPERIENCE DU 11, 12, 1963 CHIEN 310,3 Kg

	14 cm ³ d'hématies de rat			26 mg protamine		
	11h 23	11h 45	11h 48	11h 50	12h 55	14h 05
témoin						
Hb plasmatique (g/l)	0	2,5		4,7	4,2	2,5
Plaquettes/mm ³	450 000	50 000		50 000	100 000	150 000
Fibrinogène (g/l)	3	2,6		2,5	3	2,8
T. de thrombine	17 s.	> 10mn		19 s.	18 s.	18 s.
T. de lyse des euglobulines	2 h 40	30 mn		45 mn	2 h	> 5 h
Activité prothrombinique globale	100%	90%		80%	80%	90%
T.E.G. sang total :						
r	11 mn	> 150mn		6 mn	12 mn	13 mn
am (en mm)	64			37	56	52
						11 mn 30
						60

Tableau 9

Modifications de certains facteurs de la coagulation après neutralisation de l'héparine.

Ces résultats correspondent à l'expérience de la fig 9

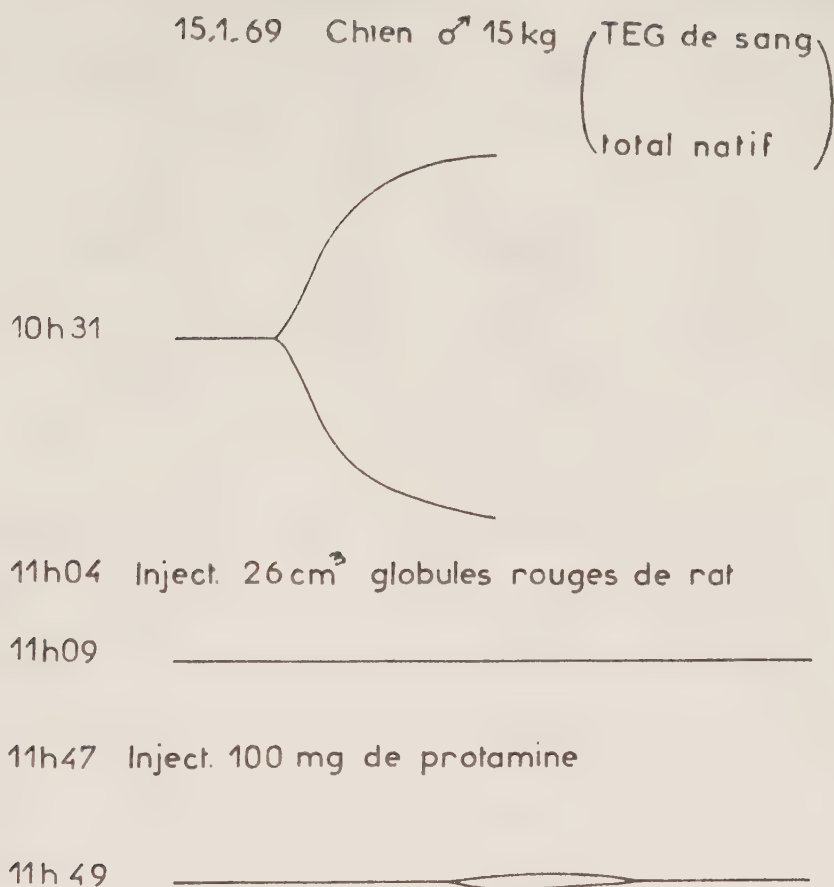


Figure 10

Evolution du thrombélastogramme de sang total après neutralisation de l'héparine endogène en période de collapsus.

Après injection des globules rouges de rat, le sang ne coagule pas (11 h 09). Après injection de 100 mg de sulfate de protamine, un caillot se forme lentement et lyse rapidement (11 h 49). Les différents paramètres de la coagulation sont précisés dans le tableau 10.

EXPERIENCE DU 15. 1. 1969 CHIEN ♀ 15 kg

	26 cm ³ d'hématies de rat			100 mg protamine	
	témoin	11 h 04	11 h 09	11 h 47	11 h 49
Hb plasmatique (g/l)	0		7		
Plaquettes/mm ³	500 000		24 000		22 000
Fibrinogène (g/l)	4		4,6		2,4
T. de thrombine	16 s.	↓	> 5 mn	↓	18 s.
Héparine ₃ (μg/cm ³ plasma)	0		25		<0,3
T. de lyse des euglobulines	6 h.		39 mn		16 mn
Produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine (μg/cm ³ sérum)	2		1		125
Activité prothrombini- que globale	100 %		90 %		55 %
Prothrombine	100 %		80 %		50 %
Accélérine	100 %		90 %		60 %
T.E.G. sang total :					
r	10 mn		> 60 mn		25 mn
am (en mm)	65				3
T.E.G. plasma pauvre en plaquettes :					
r	3 mn 30		> 60 mn		1 mn
am (en mm)	24				14

Tableau 10

Modifications de certains facteurs de la coagulation après neutralisation de l'héparine

Ces résultats correspondent à l'expérience de la fig. 10

Les répercussions, sur la coagulation, de la neutralisation de l'héparine, sont influencées par plusieurs facteurs :

- le nombre de plaquettes ;
- l'état d'activation du système fibrinolytique ;
- le niveau tensionnel ;
- la quantité de protamine administrée.

Le grand nombre des mécanismes en jeu compromet la reproductibilité de l'expérience ce qui limite les possibilités d'interprétation à la constatation de certains caractères communs :

1° - Lorsque le choc est modéré, la correction du temps de thrombine s'accompagne d'une amélioration de la coagulation. La structure du caillot reste cependant tributaire du nombre de plaquettes. Ces résultats concordent avec les effets de la neutralisation in vitro de l'héparine, précédemment étudiés. Ils permettent de comprendre qu'un autre antagoniste de l'héparine, le bleu de toluidine corrige de façon inconstante le temps de saignement chez l'homme (FRIESEN 41 - MUIRHEAD 111) et chez le chien (FRIESEN 41 - PIFER 127).

De plus on remarque, soit sur sang total, soit sur plasma pauvre en plaquettes, une accélération de la coagulation. C'est un phénomène que nous avons déjà observé en l'absence d'héparine au cours du choc ordinaire.

2° - De nouvelles perturbations surviennent lorsque la protamine est injectée en quantité importante alors que l'animal se trouve en état de collapsus et que le déséquilibre du système fibrinolytique est favorable à l'apparition d'une activité lytique circulante. L'effet des déficits en prothrombine et en accélélerine s'ajoute alors aux répercussions de la thrombopénie sur l'hémostase.

En résumé il semble que la neutralisation in vivo de l'héparine n'entraîne pas de nouveaux désordres de la coagulation, si le niveau tensionnel n'est pas trop bas et si la quantité de protamine injectée n'est pas trop importante.

Ces restrictions appellent quelques remarques :

Les diminutions des taux de prothrombine, d'accélélerine et de fibrinogène peuvent dépendre soit de l'injection des hématies incompatibles, soit d'un excès de protamine. En effet cette substance peut, indépendamment de ses propriétés antihépariniques, entraîner par elle même un ralentissement de la coagulation. Cet effet visible in vitro (HOUGIE 61) et in vivo (PERKINS 126), lors d'injection trop rapide ou excessive, (3 - 5 mg/kg) serait dû à une perte d'activité des facteurs V (accélélerine) et IX (facteur antihémophilique B) (BRITTEN 18 ; PERKINS 126). Or les conditions expérimentales ne nous permettent pas de dissocier cet effet spécifique de la protamine des répercussions de la neutralisation de l'héparine en période de collapsus.

C'est pourquoi dans d'autres expériences nous avons administré les antagonistes de l'héparine avant l'injection des hématies incompatibles. Ce moyen permet de contrôler l'effet des substances utilisées et de neutraliser l'héparine dès son apparition dans la circulation.

II - EFFETS DE LA NEUTRALISATION DE L'HEPARINE PAR L'ADMINISTRATION PREALABLE D'ANTAGO- NISTES.

Nous avons été amenés à utiliser deux produits, le sulfate de protamine et le polybrène*, car nous avons constaté que les résultats varient légèrement selon l'antagoniste employé.

A - NEUTRALISATION PAR LE SULFATE DE PROTAMINE

Nous avons pu perfuser jusqu'à 4,4 mg/kg de sulfate de protamine à la vitesse de 1 mg/mn sans entraîner d'hypocoagulabilité sanguine.

a - Chez l'animal normal l'injection d'hématies incompatibles entraîne (fig. 11 et tableau 11) :

- une accélération de la coagulation ;
- une altération des propriétés mécaniques du caillot ;
- une chute du nombre de plaquettes ;
- un raccourcissement du temps de lyse des euglobulines.

L'élévation progressive du nombre des plaquettes s'accompagne d'une augmentation de l'amplitude du thrombélastogramme qui devient supérieure à sa valeur de départ. Les paramètres longitudinaux et transversaux reviennent à des valeurs normales 4 heures après l'injection.

b - Chez les chiens préalablement sensibilisés (titre d'agglutinines = 1200) les modifications immédiates de la coagulation sont similaires, cependant l'accélération de la coagulation se maintient moins longtemps. Dans un cas de nouvelles anomalies de la coagulation sont apparues une heure après l'injection. La persistance du déficit plaquettaire et la diminution du taux d'accélérine contribuent en partie à cette aggravation des troubles de la coagulation (fig. 12 et tableau 12).

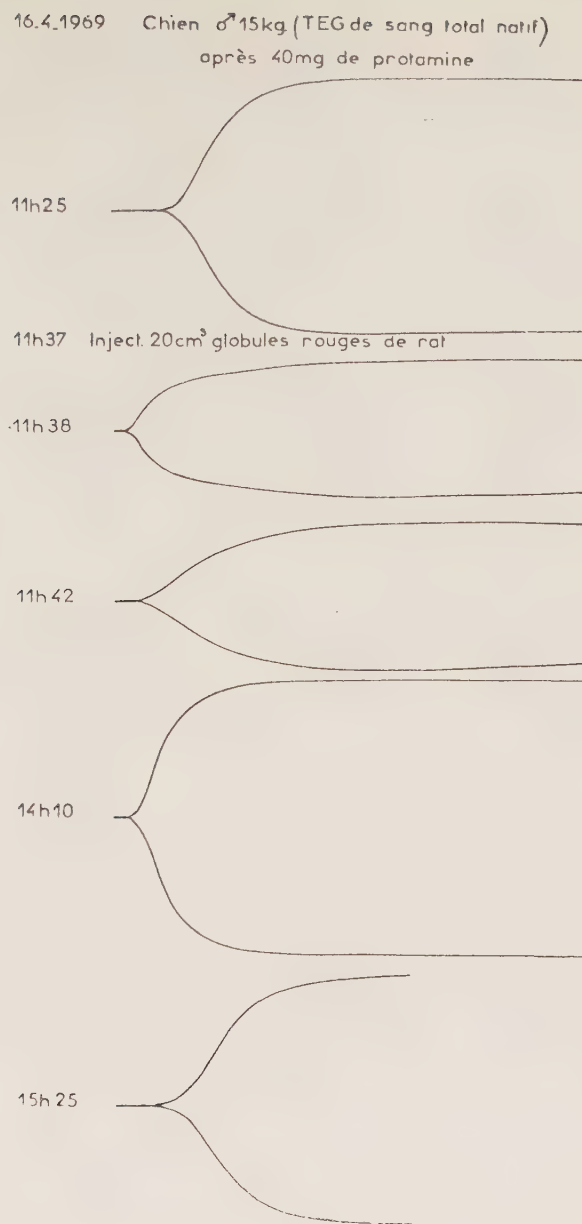


Figure 11

Evolution du thrombélastogramme de sang total, chez un chien non préparé, après neutralisation préventive de l'héparine endogène par une perfusion de sulfate de protamine.

L'injection de globules rouges de rat (11 h 37), précédée d'une perfusion de sulfate de protamine, entraîne un raccourcissement du temps de latence et une diminution de l'amplitude.

Les modifications de la coagulation sont précisées dans le tableau 11.

c - Discussion

La perfusion lente de protamine permet d'administrer une dose considérable qui ne perturbe pas la coagulation et qui empêche l'apparition d'héparine consécutive à l'injection d'hématies incompatibles. Chez les animaux normaux les modifications de l'hémostase sont semblables à celles déjà observées en l'absence de cet anticoagulant : la coagulation s'accélère mais le caillot formé reste défectueux en raison de la thrombopénie.

Cependant, on s'attendrait, compte tenu du nombre de plaquettes, à obtenir une amplitude thrombélastographique plus faible. Il semble que les effets du déficit plaquettaire sur la vitesse de coagulation et sur la structure du caillot soient contrebalancés par un facteur activant la coagulation et renforçant la structure du caillot. Cet effet persiste alors que le nombre de plaquettes est redevenu normal ; il se traduit par une hypercoagulabilité cinétique et structurale typique. C'est un point sur lequel nous reviendrons en examinant les mécanismes impliqués dans l'accélération de la coagulation.

Chez les animaux sensibilisés ayant subi un choc prolongé, il apparaît parfois d'autres perturbations, plus tardives, déterminées en partie par des déficits en plaquettes et en facteur V. Ainsi il semble que l'injection d'hématies incompatibles peut, en l'absence d'héparine et dans les cas d'hypotension durable, entraîner un appauvrissement du sang en facteurs nécessaires à la coagulation. Ces déficits proviennent-ils d'une "consommation" au cours d'un processus de coagulation intravasculaire disséminée ou d'une dénaturation sous l'action d'enzymes protéolytiques ? Le temps de lyse des euglobulines n'est pas en faveur d'une activation excessive du système fibrinolytique. Par contre, la persistance de la thrombopénie peut être considérée comme l'indice d'une activation de la coagulation dans le lit vasculaire.

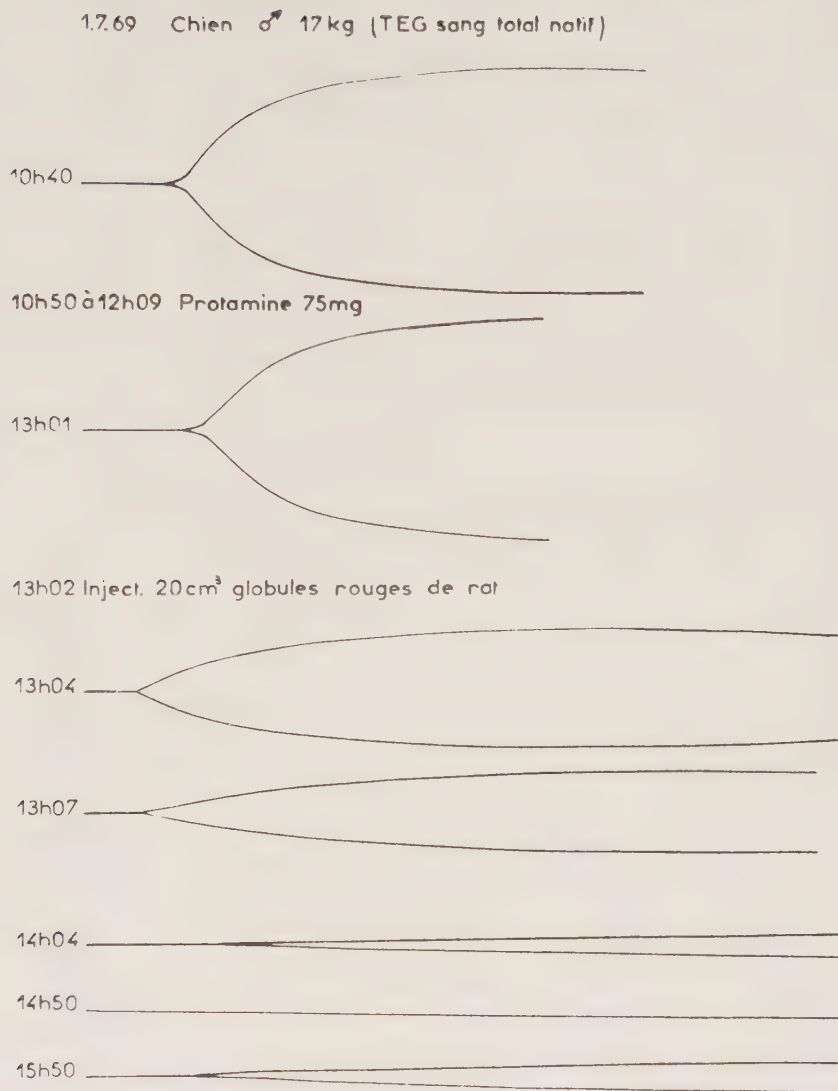


Figure 12

Evolution du thrombélastrogramme de sang total après suppression de l'héparine endogène, chez un chien sensibilisé.

L'injection de globules rouges de rat entraîne des altérations croissantes de la coagulation. Après une brève phase d'accélération de la coagulation (13 h 04 et 13 h 07) survient un ralentissement important dont les détails sont précisés dans le tableau 12.

EXPERIENCE DU 1.7.1969 - Chien ♂ 17Kg.

		<protamine 75 mg>		20cm ³ d'hématies de rat													
		10h.50 à 12h.09	13 h. 01	13 h. 02	13 h. 04	13 h. 07	14 h. 04	14 h. 50	15 h. 50								
Hb plasmatique (g/l)	0		1		5,8	8,7	7,4	7,1	4								
Plaquettes /mm ³	220 000		254 000		10 000	12 000	40 000	48 000	74 000								
Fibrinogène (g/l)	1,9		2,2		2,4	2,4	1,5	1,9	1,8								
T de thrombine	16 s.		15 s.		15 s.	16 s.	17 s.	18 s.	22 s								
T de réptilase	17 s.		16 s.		16 s.	16 s.	18 s.	18 s	18 s 4								
T de lyse des euglobulines	1 h 10		2 h 20		43 mn.	2 h 00	2 h 20	2 h 00	1 h 10								
Activité prothrombinique globale	100 %		100 %		100 %	100 %	80 %	50 %	50 %								
Accéléérine	100 %		100 %		100 %	80 %	80 %	50 %	50 %								
Prothrombine	100 %		100 %		100 %	100 %	80 %	80 %	80 %								
TEG sang total	13 mn		15 mn		7 mn 30	8 mn	17 mn	> 200 mn	13 mn								
am en mm.	62		60		32	23	8		10								

Tableau 12

Modifications de certains facteurs de la coagulation correspondant à l'expérience de la fig 12.

Nous avons tenu à utiliser un autre antagoniste de l'héparine, le bromure d'hexadiméthrine (ou polybrène*) qui a été administré de la même façon que le sulfate de protamine. Les résultats obtenus sont voisins de ceux que nous avons rapportés mais leur interprétation est plus aisée.

B - NEUTRALISATION PAR LE POLYBRENE *

En perfusion lente, à la vitesse de 1 mg/mn, on peut administrer jusqu'à 4 mg/kg de bromure d'hexadiméthrine sans perturber la coagulation.

a - Réactions observées chez l'animal normal (fig. 13 ; tableau 13)

— Les modifications immédiates, consécutives à l'injection des hématies incompatibles, sont semblables à celles précédemment décrites lors d'utilisation de la protamine : la coagulation s'accélère ; la structuration du caillot se détériore ; le nombre de plaquettes s'effondre ; il apparaît un excès d'activateurs du plasminogène.

— Quelques minutes plus tard les paramètres thrombélastographiques chronologiques s'allongent tandis que l'altération des qualités mécaniques du caillot s'aggrave. On constate alors qu'il n'y a plus d'activateurs du plasminogène en excès mais que le taux des produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine s'est considérablement accru.

— Au fur et à mesure que le nombre de plaquettes s'élève, les paramètres thrombélastographiques r et am se rapprochent des valeurs normales. Cependant le taux d'accélération est diminué et la coagulation globale reste ralentie. La concentration du fibrinogène baisse d'environ 30% mais garde une valeur suffisante pour assurer une hémostase normale.

— A l'issue de cette période d'observation deux animaux ont été fortement héparinés, sacrifiés puis autopsiés. Aucun caillot visible à l'œil nu n'a été décelé dans le cœur droit ou dans les vaisseaux pulmonaires.

Deux chiens soumis aux mêmes agressions ont été conservés un mois. Nous avons observé que la coagulation redevient normale 24 à

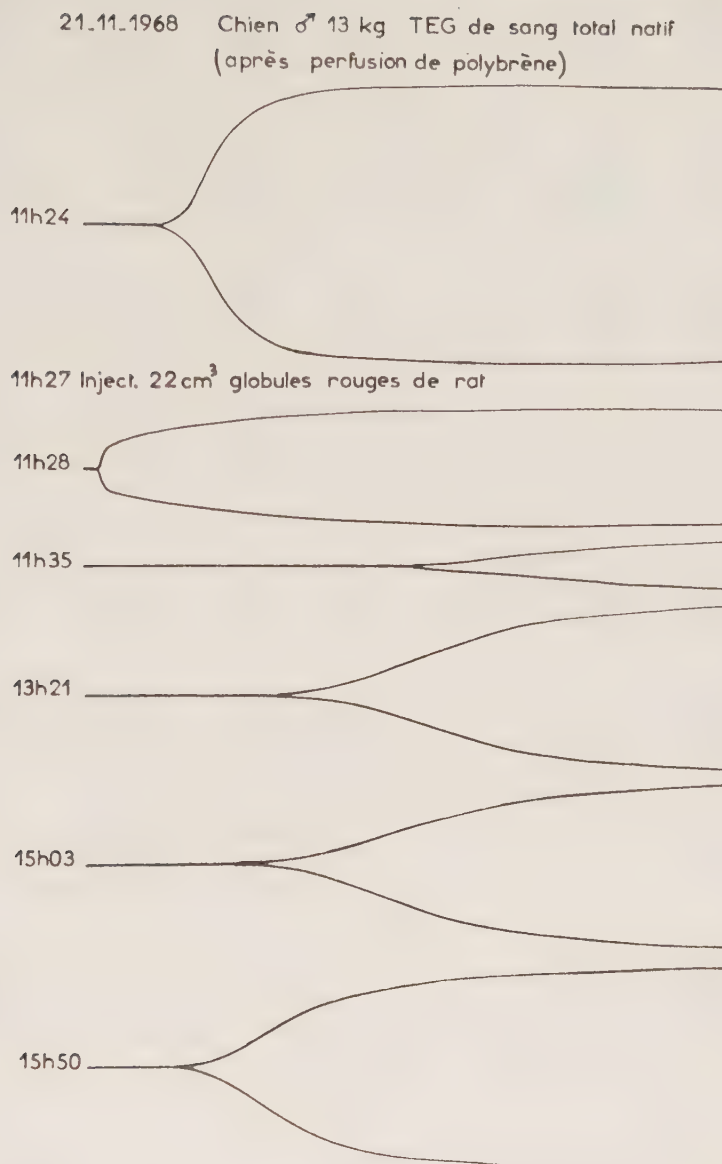


Figure 13

Evolution du thrombélastogramme de sang total, chez un chien non préparé, après neutralisation préventive de l'héparine endogène par une perfusion de polybrène.

L'injection de globules rouges de rat entraîne d'abord une accélération de la coagulation (11 h 28) puis un ralentissement qui se corrige progressivement. Les résultats des examens effectués sont précisés dans le tableau 13.

EXPERIENCE		DU	21.11.1968		Chien ♂ 13 Kg.	
		poly brène 50mg. 10h.39 à 11h.21 11h.24 11h.27 11h.28 11h.35 11h.47 13h.21 15h.03 15h.50 22cm.³ d hématies de rat ↓				
Hb plasmatique (g./l.)	0	11h.24	0	11h.47	15h.50	
Plaquettes /mm. ³	420 000	11h.24	380 000	11h.47	200 000	
Fibrinogène (g./l.)	4	11h.24	3,6	11h.47	2,6	
T. de thrombine	14s.	11h.24	14s.	11h.47	15s.	
T. de lyse des euglobulines	2 h.20	11h.24	20 mn.	1h.20	5 h.30	
Produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine (mcg./cm ³ sérum)	0	11h.24	1	125	250	
Activité prothrombinique globale	100 %	11h.24	100 %	50 %	50 %	
Accélélerine	100 %	11h.24	90 %	40 %	30 %	
Prothrombine	100 %	11h.24	100 %	85 %	80 %	
T.E.G sang total	12mn 30	11mn.30	2mn.30	25mn.	13mn 30	
r	>60	72	31	45	54	
am en mm			15			

Tableau 13

Modifications de certains facteurs de la coagulation correspondant à l'expérience de la fig. 13.

48 heures après l'injection des hématies et qu'aucun trouble ultérieur ne se manifeste.

Le ralentissement durable de la coagulation est un phénomène nouveau. Le déficit en plaquettes et en accélélerine ne suffit pas à l'expliquer et il est probable qu'une perturbation de la thromboplastinofornation y contribue.

o

o

o

.

Des modifications du même type mais beaucoup plus accentuées se produisent chez l'animal préalablement sensibilisé.

b - Réactions observées chez l'animal sensibilisé.

Après l'injection des hématies de rat, la pression artérielle des chiens sensibilisés baisse au-dessous de 5 cm Hg et s'y maintient au moins 20 minutes.

La première expérience analysée correspond à un choc irréversible.

1 - L'expérience du 27. 11. 1968 est faite sur un chien chloralosé de 8 kg dont le titre d'agglutinines est égal à 5 000. Après une perfusion de polybrène* (30 mg en 30 mn), 14 cm³ d'hématies de rat sont injectés. Immédiatement la pression artérielle s'abaisse à 2 cm Hg. L'animal est mort 30 mn plus tard.

Les résultats concernant la coagulation sont rapportés dans la fig. 14 et les tableaux 14 et 15.

Les modifications globales immédiates sont semblables à celles que nous avons observées en l'absence d'héparine. Sur thrombélastogramme le temps de réaction r se raccourcit alors que l'amplitude baisse. Le nombre de plaquettes diminue. Il apparaît une augmentation des activateurs du plasminogène qui déséquilibre le système fibrinolytique au point que la détermination du taux de fibrinogène en est influencée. En effet, la concentration de ce facteur n'est pas mesurable en l'absence d'inhibiteur de la fibrinolyse (l'acide epsilon aminocaproïque).

Quelques minutes plus tard le tracé thrombélastographique devient plat. Les analyses effectuées montrent que de nombreuses étapes de la coagulation sont perturbées.

- La fibrinoformation est altérée essentiellement par suite du déficit en fibrinogène. De plus, il existe une activité antithrombique modérée dans le plasma et dans le sérum qui ne résiste pas à un chauffage à 100° C. Elle inhibe légèrement l'action de la reptilase.

Le plasma à tester diminue la structuration d'un caillot de plasma normal. Ceci se traduit sur les thrombélastogrammes par une diminution de l'amplitude (tableau 15). Ce phénomène ne peut s'expliquer que par une inhibition de la polymérisation de la fibrine.

- La thrombinoformation est réduite : il se produit une diminution de l'activité prothrombinique globale.

- L'activité fibrinolytique s'intensifie. Elle est visible sur les thrombélastogrammes de sang total et de plasma pauvre en plaquettes. Il est difficile de déterminer le temps de lyse des euglobulines car celles-ci ne coagulent pas en raison de l'hypofibrinogénémie. Cependant 0,10 cm³ de leur solution provoquent la lyse de caillot d'euglobulines normales en 30 s. et 0,05 cm³ de la même solution lysent 0,6 mg de fibrinogène bovin en 30 mn.

Le taux des produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine est considérablement élevé. Lorsque leur concentration atteint 500 µg/cm³ de sérum, ils apparaissent en immunoélectrophorèse. On remarque sur la fig. 14 la présence de plusieurs arcs de précipitation.

L'autopsie est faite après injection de 100 mg d'héparine. Nous avons trouvé de nombreux caillots surtout dans le cœur droit et l'artère pulmonaire.

Le cas suivant, sur lequel des observations ont été faites pendant la remontée de la pression artérielle, présente des modifications du même ordre mais plus atténuées et plus espacées dans le temps. Nous avons essayé d'en préciser l'évolution.

EXPERIENCE DU 27.11.1968				Chien 8, 9 Kg.	
		polybrène 30mg. →		Mcm ³ d'hématies de rat	
	rémain	10h.14 à 10h.51	10h.58	11h.01	11h.02 11h.09 11h.17 11h.30 11h.49
Hb plasmatique g/l	-----	0,1	-----	-----	4,7 4,4 8,6 6,7
Plaquettes /mm ³	-----	400 000	-----	-----	50 000 60 000
Fibrinogène (g/l)	-----	3,4	-----	-----	0 0 0
Fibrinogène (g/l)	-----	2,2	-----	-----	0 0 0
+ ac aminocaproïque	-----	2,8	-----	-----	0 0 0
T de thrombine	-----	17s.	-----	-----	1mn. 20s. >10mn.
T de thrombine du mélange :					
plasma normal					
+ plasma étudié (20°C)	-----	18s.	-----	-----	21s. 23s. 21s.
(100°C)	-----	17s.	-----	-----	16s. 17s. 17s.
T de thrombine du mélange :					
plasma normal					
+ sérum étudié	-----	15s.	-----	-----	15s. 16s. 18s.
T de réptilase du mélange :					
plasma normal					
+ plasma étudié	-----	16s.4	-----	-----	17s.4 21s. 20s. 20s.
T de réptilase du mélange :					
plasma normal					
+ sérum étudié	-----	16s.	-----	-----	18s.6 20s. 20s.
T de lyse du mélange des euglobulines normales + euglobulines pathologiques	-----	2h.40mn.	-----	-----	9mn. 30s 30s 30s
Produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine (mcg./ml. de sérum)	-----	2	-----	-----	250 500 1000 1000
Activité prothrombinique globale	-----	100%	-----	-----	90% 50% 35% 35%

Tableau 14

Modifications de certains facteurs de la coagulation après injection d'hématies de rat, chez un chien sensibilisé.

Expérience du 27 . 11. 1968

14 cm³ d'hématies de rat

10 h 58 11 h 01 11 h 17 11 h 30 11 h 49 soluté
physiologique

amplitude throm- 20 ↓ 15 14 13 19
bélastographique
(en mm)

Tableau 15

Modifications de la structure d'un caillot de plasma normal par l'addition de plasma pathologique.

Exp. du 27.11.1968 chien ♀, 8Kg.

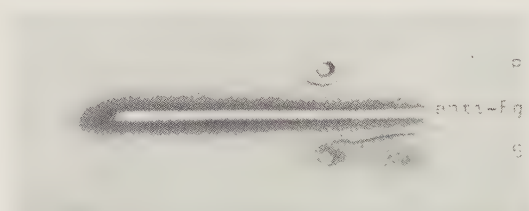
10h.04



10h.14 à 10h.51 → 30mg. de bromure d'héxadiméthrine

11h.01 → 14cm³ d'hématies de rat

11h.17



11h.30



11h.49

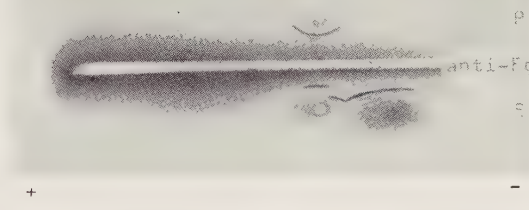


Figure 14

Immunoélectrophorèse du sérum après injection d'hématies de rat à un chien sensibilisé chez lequel l'apparition d'héparine est prévenue par une perfusion de polybrène (= bromure d'hexadiméthrine).

Mise en évidence des produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine formés *in vivo* par la plasmine. Leur concentration, précisée dans le tableau 14, est rappelée entre parenthèses.

- anti-Fg : sérum de lapin anti-fibrinogène de chien;
 - P : plasma témoin obtenu avant toute agression; l'arc de précipitation correspond au fibrinogène;
 - S : sérum recueilli (en présence d'acide epsilon aminocaproïque) au cours de l'expérience.
- 10 h 04 : témoin;
11 h 17 : deux arcs de précipitation (500 µg/cm³);
11 h 30 : un arc (1000 µg/cm³);
11 h 49 : trois arcs (1000 µg/cm³).

Une fibrinolyse aiguë coïncide avec l'apparition de ces produits. Ceux-ci sont contemporains d'une activité antithrombine (tableau 14) et d'un inhibiteur de la polymérisation de la fibrine (tableau 15).

2 - L'expérience du 18. 11. 1968 est poursuivie chez un chien chloralosé de 10 kg. L'injection de 14 cm³ d'hématies de rat, effectuée après une perfusion de 40 mg de polybrène *, déclenche une hypotension de longue durée partiellement réversible. La pression artérielle s'abaisse à 4 cm de Hg et ne remonte à 8 cm de Hg qu'après une période de 4 heures. Les résultats concernant la coagulation sont rassemblés dans les fig. 15 et 16 et le tableau 16.

Les modifications immédiates sont les mêmes que celles précédemment décrites.

Après la phase d'accélération de la coagulation survient un ralentissement associé à une fibrinolyse (fig. 15). L'excès d'activateurs du plasminogène, déjà présent à la première minute, s'accroît ainsi que l'indique la lyse en 40 minutes du mélange d'euglobulines normales et pathologiques. La fibrinoformation est retardée. Le déficit en fibrinogène en est la raison principale car l'activité antithrombine décelée dans le plasma (mais non dans le sérum) est très discrète.

Dès que la pression artérielle commence à se relever, le temps de lyse des euglobulines augmente. Il se produit une brève et relative amélioration de la coagulation (visible sur le prélèvement de 12 h 21 de la fig. 15). Dès ce moment les produits de dégradation de la fibrine ou du fibrinogène, précédemment décelables par la technique de Merskey, apparaissent en immunoélectrophorèse sous forme d'un arc de même mobilité que le fibrinogène (fig. 16).

Dans les deux heures suivantes, l'hypotension est partiellement corrigée. Sur les thrombélastogrammes se manifestent de nouvelles altérations de la coagulation. La concentration du fibrinogène est toujours faible et le taux des fragments provenant de sa dégradation ou de celle de la fibrine reste élevé. Une diminution des taux d'accélérine, et à un moindre degré de prothrombine, est observée. La thrombopénie se corrige partiellement mais, le nombre de plaquettes demeure insuffisant.

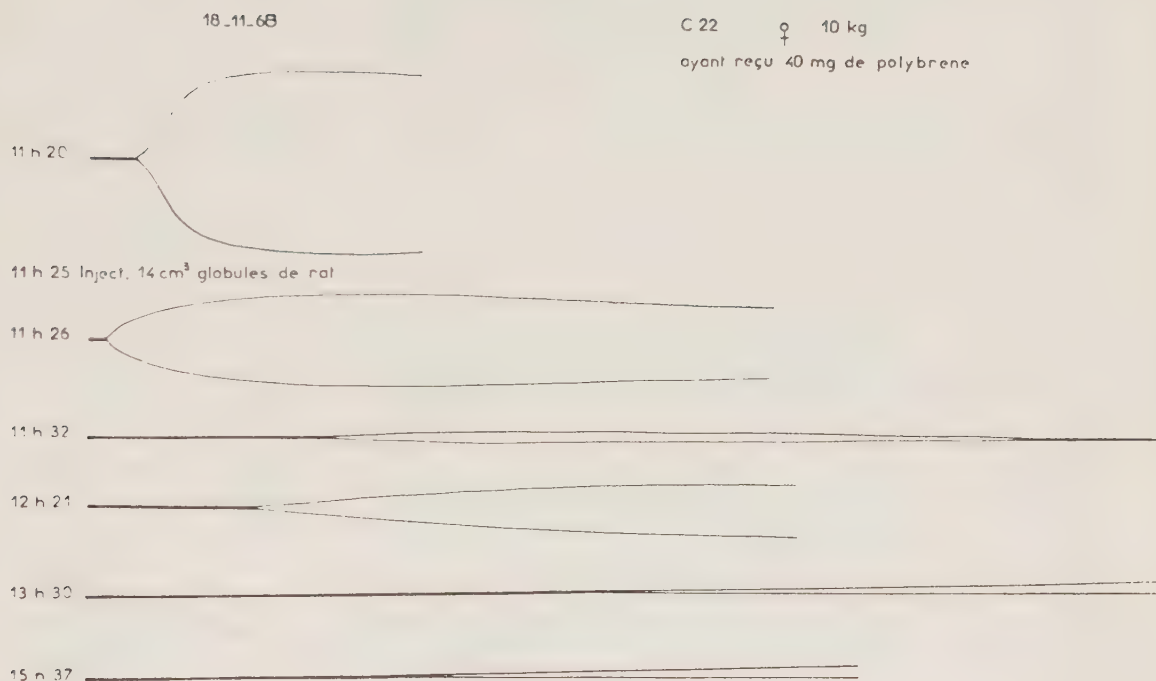


Figure 15

Modifications progressives du thrombélastogramme de sang total après injection de globules rouges de rat chez un animal sensibilisé. L'apparition d'héparine est prévenue par une perfusion préalable de polybrène.

11 h 26 : la coagulation est accélérée mais défectueuse
11 h 32 à 15 h 37 : la coagulation est très perturbée en raison de nombreuses anomalies (tableau 16).

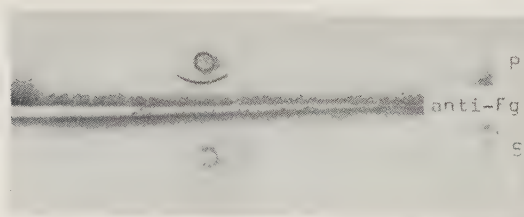
EXPERIENCE		DU	18.11.1968		CHIEN ♀, 10 Kg.								
		polybrène : 40mg.				14cm ³ d'hématies de rat							
	témoin	10h.31 à 11h.10	11h.20	11h.25	11h.26	11h.32	11h.41	12h.21	13h.30	15h.37			
Hb plasmatique (g./l.)	0		0		8,4	2,6	4,4	2,8	2,7	4,5			
Plaquettes /mm ³	460000		400000		20000	10000	15000	60000	60000	60000			
Fibrinogène (g/l)	1,8		1,6		2	1	0,4	0,3	<0,3	<0,3			
Fibrinogène (g./l.) (+ac ζaminocaproïque)	1,6		1,6		1,4	2,2	0,8	0,6	<0,3	<0,3			
T de thrombine	15s.		15s.8		24s.	28s.	29s.	26s.	37s.	42s			
T de thrombine du mélange: plasma normal + plasma étudié	19s.		19s.		19s.	19s	20s.	21s.4	21s.2	21s.2			
T de lyse du mélange euglobulines normales euglobulines pathologiques	4h.00		3h.30		1h.45	40mn.	30mn.	4h.00	>5h.00	>5h.00			
Produits de dégradation du fibrinogène et de la fibrine (mcg /ml. de sérum)	2		4		8	100	200	400	400	400			
Activité prothrombinique globale	100%		100%		90%	90%	60%	50%	30%	30%			
Prothrombine	100%		95%		90%	90%	75%	75%	60%	65%			
Accélélerine	100%		100%		100%	90%	80%	50%	25%	25%			

Tableau 16

Modifications de certains facteurs de la coagulation après injection d'hématies de rat chez un chien sensibilisé.
Ces résultats correspondent à l'expérience des fig. 15 et 16.

Exp. du 18.11.1968 chien ♀, 10 Kg.

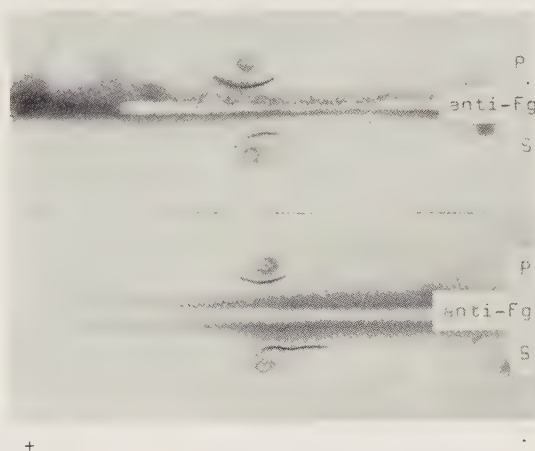
10h.55



10h.31 à 11h.10 → 40mg. de bromure d'héxadiméthrine

11h.25 → 14cm³ d'hématies de rat

12h.21



15h.37



Figure 16

Immunoélectrophorèse du sérum après injection d'hématies de rat à un chien sensibilisé chez lequel l'apparition d'héparine est prévenue par une perfusion de polybrène (= bromure d'hexadiméthrine).

- anti-Fg : sérum de lapin anti-fibrinogène de chien;
 - P : plasma témoin obtenu avant toute agression; l'arc de précipitation correspond au fibrinogène;
 - S : sérum recueilli (en présence d'acide epsilon aminocaproïque) au cours de l'expérience.
- 10 h 55 : témoin;
- 12 h 21 et 15 h 37 : apparition de produits de dégradation du fibrinogène et de la fibrine (concentration : 400 µg/cm³). A ce moment, il n'y a plus d'activité fibrinolytique circulante (tableau 16).

A la fin de l'expérience la pression artérielle est égale à 8 cm Hg. A l'autopsie, pratiquée après injection d'héparine, trois caillots bien visibles ont été trouvés dans une artère pulmonaire.

c - Discussion

Avant d'analyser ces résultats, nous avons vérifié que ces troubles ne sont pas provoqués par le bromure d'hexadiméthrine. En effet KARLSON (67) et PERKINS (126) ont montré que l'injection rapide de polybrène*, en quantité supérieure à 1 mg/kg, entraîne instantanément des perturbations de toutes les étapes de la coagulation, réversibles en 4 heures. Il ne semble pas en être ainsi lorsqu'il est administré lentement, cependant l'hypothèse d'une élévation de toxicité pendant le choc ne peut être à priori exclue. Nous avons constaté qu'une perfusion de polybrène* associée à une hypotension hémorragique ou pharmacologique (induite par la kallicréine) n'entraîne qu'une accélération de la coagulation. Ainsi il apparaît, que l'injection d'hématies incompatibles est bien à l'origine des anomalies de l'hémostase observées lorsque l'action de l'héparine est prévenue par un apport de polybrène*.

Les troubles de la coagulation observés chez les animaux sensibilisés proviennent essentiellement d'un appauvrissement du sang en facteurs nécessaires à la thromboplastinoformation, à la thrombinoformation, à la fibrinoformation et à la structuration du caillot, auquel s'ajoute une activité antithrombique discrète.

Deux mécanismes interfèrent dans la génèse de ces troubles : l'activation de la coagulation dans le lit vasculaire, établie par la présence de caillots à l'autopsie et l'activation du système fibrinolytique observée au cours de l'exploration de l'hémostase.

Différents arguments permettent de supposer que la thrombose se produit brutalement dès l'injection des hématies incompatibles :

— In vitro on constate que la fibrine peut se former en 4 mn alors qu'il faut au moins 19 mn pour qu'elle soit lysée, malgré l'élimination des inhibiteurs de fibrinolyse ;

— La localisation des caillots suggère qu'ils se sont formés sur le trajet veineux des hématies injectées et qu'il ont été bloqués au niveau des capillaires pulmonaires.

— La thrombose observée chez l'animal décédé en état de fibrinolyse aigüe implique l'antériorité de la coagulation intravasculaire.

Il est difficile de préciser le rôle respectif de chacun de ces mécanismes dans la genèse des déficits observés. En effet les syndromes biologiques de la coagulation intravasculaire disséminée (ou coagulopathie de consommation) et de la protéolyse présentent des similitudes car la plasmine dégrade les facteurs I (fibrinogène), V (accélérine), VIII (antihémophilique A) dont les taux diminuent également lors de la coagulation. Un tableau, emprunté à I.M. NILSSON (119), résume les caractères distinctifs de ces deux phénomènes. Il faut cependant préciser que les répercussions sur l'hémostase de la thrombose massive peuvent être transitoires et n'entraîner qu'une diminution de 50% des taux des facteurs I, V, et VIII (DOSNE 29).

1 - La thrombopénie généralement considérée comme critère de coagulation intravasculaire est difficilement interprétable dans nos conditions expérimentales ; en effet, qu'il y ait ou non coagulation intravasculaire, le nombre des plaquettes diminue toujours après l'injection d'hématies incompatibles. Cependant la récupération paraît plus lente dans les cas de formation intravasculaire de caillots.

CRITERES DE DISTINCTION ENTRE LA COAGULATION INTRAVASCULAIRE ET LA FIBRINOLYSE

	<u>Fibrinolyse</u> <u>primaire.</u>	<u>Coagulation</u> <u>intravasculaire.</u>	<u>Coagulation intravasculaire</u> <u>suivie d'une fibrinolyse.</u>
Fibrinogène	diminué	diminué	diminué
Facteur II	normal	diminué	diminué
Facteur V	diminué	diminué	diminué
Facteur VIII	diminué	diminué	diminué
Nombre de plaquettes	normal	faible	faible
Activité plasminique	forte activité	pas d'activité	pas d'activité
Activité des activateurs du plasminogène	forte activité	pas d'activité	activité accrue parfois
Produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine	forte concentration	absents	présents
Plasminogène	diminué	normal	légèrement diminué
α_2 macroglobuline (antiplasmine)	diminué		?
Temps de prothrombine en une étape	prolongé	prolongé	prolongé
Temps de thrombine	prolongé (même si du fibrinogène est ajouté).	normal (si du fibrinogène est ajouté).	normal ou légèrement prolongé (si du fibrinogène est ajouté).

2 - L'appauvrissement du sang en fibrinogène provient à la fois de sa transformation en fibrine, et d'une protéolyse. En effet la diminution du taux de ce facteur coïncide à la fois avec l'activation du système fibrinolytique et l'apparition de fragments de dégradation.

3 - L'origine des diminutions plus tardives des facteurs II et V ne peut être que conjecturale :

- Une dégradation par fibrinolyse nous paraît exclue car il n'y a plus d'activateurs du plasminogène en excès. D'autre part, elle n'expliquerait pas la déperdition de prothrombine qui échappe à l'action protéolytique de la plasmine.

- On sait qu'une diminution modérée de la prothrombine se produit au cours de coagulations intravasculaire induites par l'injection d'extrait tissulaire (ISAK 63 ; LEWIS 91 ; RAPAPORT 135). Une telle activation de la coagulation est-elle envisageable alors que les facteurs nécessaires à la formation de thrombine font défaut dans le sang ? Seul un contact, avec des tissus lésés, fournissant in situ des thromboplastines, pourrait entretenir localement le processus. Or nous avons remarqué, à l'autopsie, que les poumons et la rate présentent des zones étendues de nécrose.

- La présence de produits de dégradation de la fibrine ou du fibrinogène pourrait être à l'origine de cette diminution de l'activation de l'accélérine et de la prothrombine car NILEHN (116) observe un tel phénomène in vitro ; le fait est également signalé par TRIANTAPHYLLOPOULOS (155).

- L'origine fibrinogénolytique des produits de même antigénicité que le fibrinogène est suggérée par la concomitance de l'appauvrissement du plasma en protéine coagulable et de l'activation de la fibrinolyse. Ultérieurement l'apparition en immunoélectrophorèse d'un deuxième arc de précipitation de migration plus rapide que le fibrinogène, et ceci trois heures après cessation de l'activité fibrinolytique circulante, semble

témoigner d'une dégradation locale de la fibrine déposée dans les vaisseaux. Ce phénomène est analogue à la fibrinolyse secondaire à la coagulation intravasculaire, qui a été analysée avec précision par NORDSTROM (121) au moyen de fibrinogène marqué à l'iode 131.

5 - L'activité antithrombine décelée présente les caractères attribués aux fragments du fibrinogène et de la fibrine (antithrombine VI) : (LATALLO 84 - 85 ; NIEWIAROWSKI 114 ; SORIA 148).

← Elle allonge de façon similaire le temps de thrombine et le temps de reptilase ;

— Elle ne résiste pas à 100° C. ;

— Elle altère la polymérisation du fibrinogène d'un plasma normal.

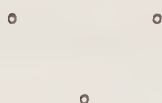
Cependant cette inhibition est beaucoup plus modérée que celle observée par KOWALSKI (74) et LEWIS (91). D'autre part sa discrétion contraste avec l'abondance des fragments de dégradation dosés.

Un phénomène semblable a été remarqué par TRIANTAPHYLLOPOULOS (155) lorsque les produits de dégradation, formés in vitro par la plasmine, proviennent de la fibrine au lieu du fibrinogène. Il estime qu'une contamination par la thrombine pourrait en être la cause.

Nous avons retenu une autre explication plus adaptée aux conditions expérimentales. NIEWIAROWSKI (115) a montré que l'antithrombine VI peut être inhibée par le facteur antihéparinique plaquettaire. Or, il semble qu'il y ait libération de ce facteur au cours de coagulations intravasculaires (FARBISZEWSKI 33). De plus, les hématies injectées ont une activité antihéparinique (POPLANSKI 129).

En résumé, dans les conditions de chocs graves la succession des réactions de coagulation et de fibrinolyse intravasculaires peut être représentée schématiquement de la façon suivante :

temps	:	
1 mn	:	thrombose
	:	
4 à 20 mn	:	activité lytique circulante
	:	
2 h.	:	lyse locale des caillots et (coagulation au contact de tissus lésés ?)



Les anomalies observées au cours de chocs moins graves ont-elles la même origine ?

On constate que les modifications de la coagulation sont de même type mais plus atténuées.

- l'activation transitoire de la fibrinolyse reste modérée ;
- il existe une diminution lente du fibrinogène qui se poursuit après disparition de l'excès d'activateurs du plasminogène.
- tardivement le sang s'appauvrit en accélélerine alors que s'élève le taux des produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine.

Malgré l'absence de caillots à l'autopsie, ces similitudes suggèrent qu'il s'est produit successivement, une activation discrète des processus de coagulation et de fibrinolyse.

C - COMPARAISON ENTRE LES EFFETS DE LA PROTAMINE ET DU POLYBRENE.^{*}

1° - Chez les animaux non préparés les modifications de la coagulation consécutives à l'injection des hématies incompatibles sont très comparables, quelle que soit la substance utilisée pour empêcher l'action de l'héparine.

2° - Chez les animaux sensibilisés, la coagulation et la fibrinolyse intravasculaires sont plus apparentes et les anomalies tardives de la coagulation plus fréquentes, lorsqu'on utilise le polybrène^{*}. L'interprétation de ces différences est difficile.

a - Il s'est trouvé, par hasard, que les chiens ayant reçu de la protamine étaient moins immunisés que ceux auxquels on a administré du polybrène^{*}.

b - Différents auteurs (GUSTAFSON 51 ; KIMURA 69 ; PAFF 124) ont montré que le polybrène et la protamine dégranulent les mastocytes mais qu'à cet égard la protamine est plus puissante. Nos observations ne concordent pas avec ces données. La décharge d'histamine, à la suite d'injection d'hématies de rat, est supprimée par l'administration préalable de 2 mg/kg de polybrène^{*}, alors qu'il faut 7 mg/kg de sulfate de protamine pour parvenir au même résultat. (Cette dose retarde nettement la coagulation sanguine et n'est pas utilisée dans les expériences destinées à l'étude de l'hémostase).

Les anomalies observées lors de l'emploi du polybrène^{*} sont-elles liées à la suppression de la réaction mastocytaire ?

L'action spasmogénique de l'hexadiméthrine (KIMURA 69-70)
joue-t-elle un rôle ?

Bien qu'apparemment il n'y ait pas de lien direct entre ces phénomènes et la coagulation il nous a paru utile de les signaler car, ainsi que nous l'analyserons, les modifications de la coagulation dépendent en partie de la dégranulation des mastocytes et des perturbations circulatoires.

D - CONCLUSIONS

Lorsqu'on empêche l'apparition d'héparine par l'administration préalable de sulfate de protamine ou de bromure d'hexadiméthrine, l'injection des hématies déclenche chez les animaux non préparés des modifications de la coagulation rapidement réversibles.

Elles se manifestent par :

- une diminution du nombre de plaquettes ;
- une accélération de la coagulation ;
- une activation modérée du système fibrinolytique.

Chez les animaux immunisés se produit une activation de la coagulation dans la circulation qui peut aboutir à la thrombose. Elle est suivie d'une activation importante mais temporaire du plasminogène. Il en résulte un ralentissement de la coagulation auquel contribuent constamment des déficits en plaquettes, en accélélerine, et accessoirement, en prothrombine et en fibrinogène.

III - EFFETS D'INJECTIONS D'HEMATIES DE RAT CHEZ LE CHIEN DONT LE FOIE EST EXCLU DE LA CIRCULATION.

Après avoir utilisé les antagonistes de l'héparine, il nous a semblé intéressant de supprimer l'organe de stockage de cette substance.

ARVY (5) et RILEY (137) ont montré que chez le chien, elle est localisée dans les granules des mastocytes hépatiques. Les travaux de NOLF (120) et de JAKUES (65) ont confirmé ce fait : l'héparine, habituellement libérée au cours du choc anaphylactique, n'apparaît pas lorsque les chiens sont hépatectomisés.

Nous avons utilisé un procédé plus simple que l'hépatectomie; il consiste à supprimer l'irrigation du foie.

Dans ces conditions les hématies incompatibles déclenchent des modifications de la coagulation dont l'importance dépend de la gravité du choc.

1° - Cas d'un choc minime. (fig. 17 et tableau 17)

L'expérience du 27. 11. 1969 est réalisée sur un chien chloralosé de 13 kg. Après l'injection de 13 cm^3 d'hématies de rat, la pression artérielle n'est pratiquement pas modifiée et reste momentanément stabilisée à 10 cm de Hg. C'est seulement une heure plus tard qu'elle diminue et tombe à zéro.

Dès l'injection des hématies, la coagulation s'accélère mais la structure du caillot est défectueuse. Cette altération des qualités mécaniques du caillot est due à la baisse du nombre de plaquettes : le plasma privé de plaquettes présente une amplitude thrombélastographique comparable à celle du témoin. Au même moment on observe une légère augmentation des activateurs du plasminogène.

Ultérieurement le nombre de plaquettes s'élève progressivement jusqu'à $90\,000/\text{mm}^3$ et simultanément la structure du caillot s'améliore.

L'accélération de la coagulation persiste jusqu'à la mort de l'animal.

27.11.69 Chien ♂ 13kg TEG de sang total natif

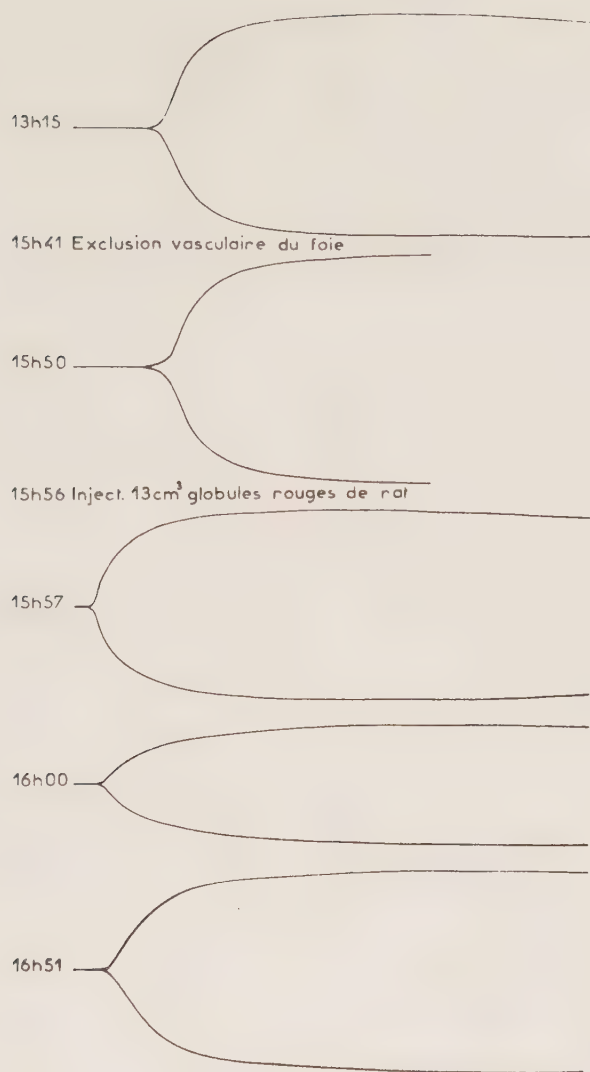


Figure 17

Modifications du thrombélastrogramme de sang total au cours d'un choc minime déclenché par l'injection de globules rouges de rat chez un chien dont le foie est exclu de la circulation.

L'accélération de la coagulation persiste alors que la réduction d'amplitude (prélèvement de 16 h00) est transitoire. Elle est contemporaine de la diminution du nombre de plaquettes (tableau 17).

	Exclusion du foie		13 cm ³ hématies de rat			
	15 h 41	15 h 50	15 h 56	15 h 57	16 h 00	16 h 16
						16 h 51
Hb plasmatique (g/l)				4,5	5,7	5,8
Plaquettes/mm ³	0	1,4				5,1
				7 000	14 000	60 000
Fibrinogène (g/l)	370 000	462 000				92 000
T. de thrombine	4,3	6		6	4,8	5
	16 s.	16 s.		16 s.	16 s.	16 s.
T. de lyse des euglobulines	3 h.	6 h.		5 h.	2 h.	2 h 40
Activité prothrombinique globale	100 %	100 %		100 %	100 %	100 %
T.E.G. sang total :						
r	13 mn	12 mn		3 mn	4 mn	4 mn 30
am (en mm)	72	74		62	40	66
T.E.G. plasma pauvre en plaquettes :						
am (en mm)		30		29	29	

Tableau 17

Modifications de certains facteurs de la coagulation correspondant à l'expérience de la fig 17.

2° - Cas d'un choc réversible (fig 18 et tableau 18).

L'expérience du 5. 12. 1969 est faite sur un animal de 13 kg auquel 22 cm³ d'hématies sont injectés. La pression artérielle passe de 8 à 4 cm Hg puis revient rapidement à son niveau initial. Elle s'y maintient pendant une heure et tombe ensuite rapidement à zéro.

Les modifications de la coagulation évoluent en deux phases.

Les perturbations initiales sont de même type que celles précédemment décrites mais l'augmentation des activateurs du plasminogène est plus sensible. Elle s'accompagne d'une fibrinolyse visible sur thrombélastogramme.

Puis, la thrombopénie et l'activation de la fibrinolyse se corrigent progressivement. Cependant la coagulation se ralentit. Le déficit en accélélerine contribue, en partie, à cette perturbation tardive.

A l'autopsie on ne trouve pas de caillots macroscopiques.

3° - Cas d'un choc irréversible (fig 19 et tableau 19)

L'expérience du 6. 6. 1969 est pratiquée sur un chien de 13 kg auquel sont administrés 18 cm³ d'hématies de rat. La pression artérielle baisse brusquement jusqu'à 3 cm Hg et continue ensuite à diminuer régulièrement.

Les réactions précédemment décrites sont très accentuées :

- La coagulation s'accélère brutalement, puis se ralentit considérablement quelques minutes plus tard.
- L'activation de la fibrinolyse s'accroît régulièrement. Elle s'accompagne d'une discrète élévation du taux des produits provenant de la dégradation du fibrinogène ou de la fibrine.

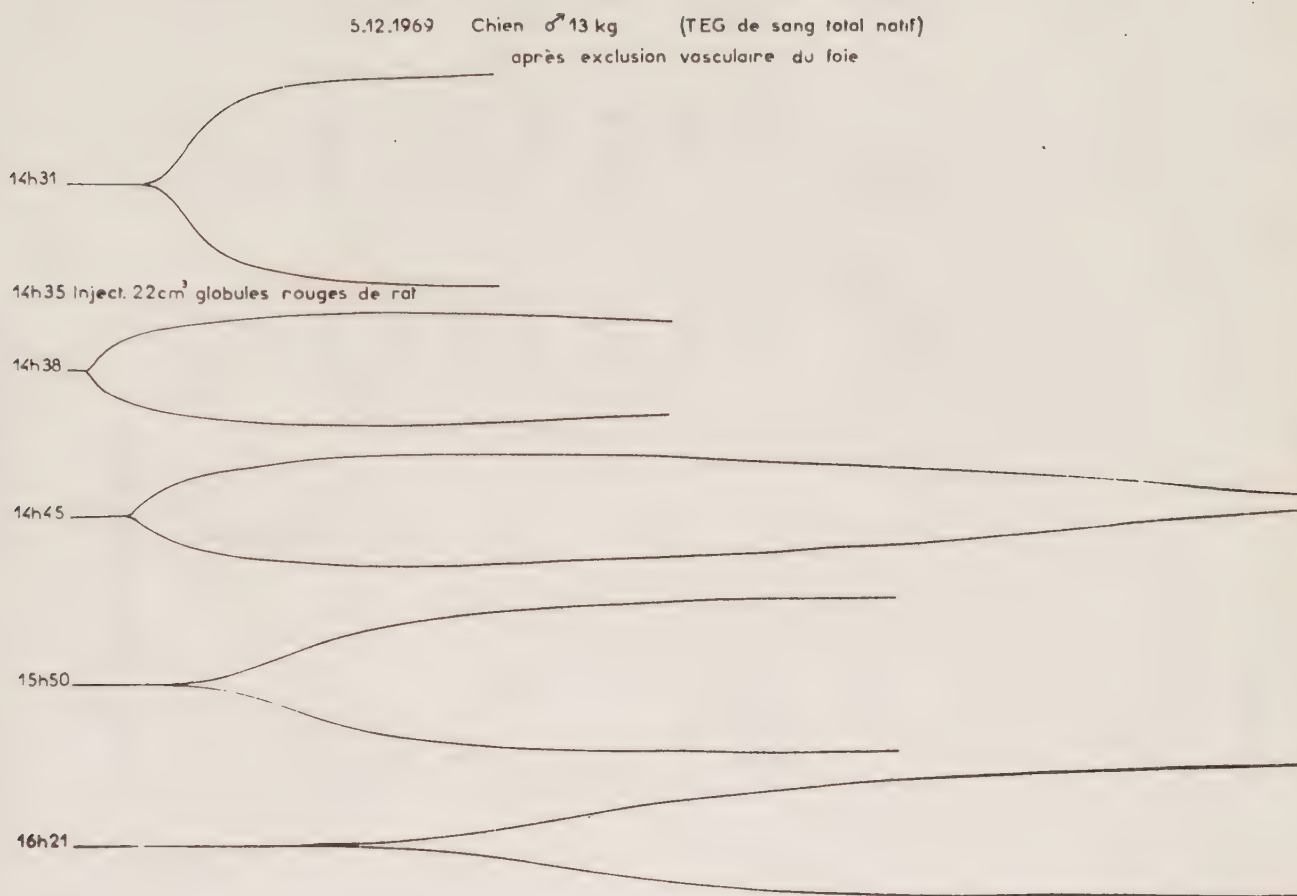


Figure 18

Modifications progressives du thrombélastrogramme de sang total au cours d'un choc réversible déclenché par l'injection de globules rouges de rat chez un chien dont le foie est exclu de la circulation.

Le raccourcissement du temps de latence (14 h 38 et 14 h 45) s'accompagne d'une lyse accélérée du caillot (14 h 45). La coagulation est ensuite très ralentie. Les analyses correspondantes sont précisées dans le tableau 18.

EXPERIENCE DU 5. 12. 1969 CHIEN ♂ 13 Kg

	Exclusion du foie		22 cm ³ hématies de rat				
	14 h 20	14 h 31	14 h 35	14 h 38	14 h 45	15 h 50	16 h 21
Hb plasmatique (g/l)	0	0	7,6	7,8	9,2	7,3	
Plaquettes /mm ³	238 000	216 000	4 000	30 000	50 000	94 000	
Fibrinogène (g/l)	5	5,8	5,6	5,4	6,7	5,7	
T. de thrombine	16 s.	16 s.	16 s.	16 s.	16 s.	18 s.	
T. de lyse des euglobulines	4 h 30	30 mn	14 mn	19 mn	6 h 30	6 h 30	
Activité prothrombinique globale	100 %	100 %	100 %	100 %	75 %	50 %	
Accélélerine	100 %	100 %	100 %	75 %	50 %	45 %	
Prothrombine	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	
TEG sang total							
r	10 mn 30	11 mn 30	2 mn 30	8mn	16 mn	36 mn	
am (en mm)	70	67	35	35	50	43	
TEG plasma							
pauvre en plaquettes							
am (en mm)		31	31	30	35	34	

Tableau 18

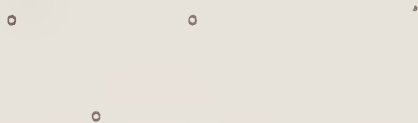
Modifications de certains facteurs de la coagulation correspondant à l'expérience de la fig 18.

- La période d'hypocoagulabilité est caractérisée par l'insuffisance des taux d'accélérine et de prothrombine. De plus il apparaît une faible activité antithrombique qui influence également l'action de la reptilase.

- La concentration du fibrinogène diminue régulièrement, mais garde une valeur compatible avec une coagulation normale.

- Le nombre de plaquettes, très diminué après l'injection des hématies incompatibles, reste faible malgré une légère amélioration.

- L'autopsie pratiquée après injection d'héparine révèle la présence de quelques caillots dans les artères pulmonaires.



Ainsi il apparaît que la suppression de l'héparine, réalisée par l'exclusion du foie, entraîne de nouvelles perturbations de la coagulation en fonction de l'importance du choc.

La coagulation intravasculaire et la fibrinolyse contribuent à l'établissement d'un état hypocoagulable.

- La fibrinolyse est un phénomène réversible lorsque l'hypotension artérielle ne dure pas.

- La coagulation intravasculaire revêt la forme d'une thrombose dans certains cas d'accélération intense de la coagulation.

Elle est difficile à déceler lorsqu'elle se produit de façon diffuse dans les différents territoires. Son diagnostic repose alors sur les diminutions des taux d'accélérine, de prothrombine et du nombre des plaquettes.

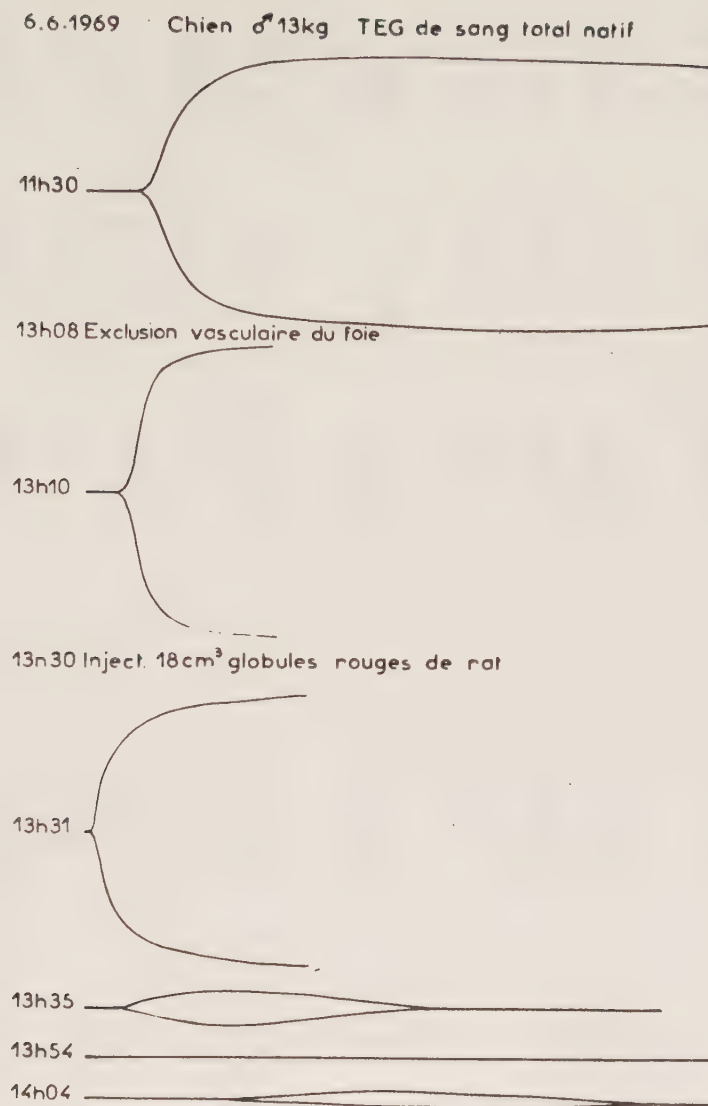


Figure 19

Modifications brutales du thrombélastrogramme de sang total au cours d'un choc irréversible déclenché par l'injection de globules rouges de rat chez un chien dont le foie est exclu de la circulation.

Il se produit une brève et intense accélération de la coagulation (13 h 31) suivie de perturbations importantes accompagnées d'une lyse rapide ou caillot (13 h 35 et 14 h 04). Les anomalies décelées sont précisés dans le tableau 19.

EXPERIENCE DU 6. 6. 1959 CHIEN ♂ 13 kg

	Exclusion du foie		18 cm ³ hématies de rat					
	témoïn	13 h 08	13 h 10	13 h 30	13 h 31	13 h 35	13 h 54	14 h 04
Hb plasmatique (g/l)	0		0		1,4	2	3,6	3,3
Plaquettes /mm ³	520 000		380 000		9 000	16 000	32 000	48 000
Fibrinogène (g/l)	3,6		3,2		3	3	2,2	2
T. de thrombine	15 s		15 s		15 s 4	22 s	22 s	26 s
T. de reptilase	17 s		17 s		17 s	20 s	20 s	21 s
T. de lyse des euglobulines	3 h		1 h 40		1 h 40	15 mn	15 mn	8 mn
Produits de dégradation du fibrinogène de la fibrine (μg/cm3 sérum)	<14		<14		<14	<14	56	112
Activité prothrombinique globale	100%		100%		100%	90%	70%	50%
Accélérine	100%		100%		100%	100%	60%	40%
Prothrombine	100%		100%		100%	90%	70%	65%
TEG sang total								
r	7mn30		5 mn		1 mn30	5 mn	> 150mn	17mn
am en mm	74		78		74	10		2

Tableau 19

Modifications de certains facteurs de la coagulation correspondant à l'expérience de la fig. 19.

Une telle activation diffuse de la coagulation dans le lit vasculaire rendrait compte du ralentissement tardif de la coagulation et du déficit en accélélerine que nous avons observés dans l'expérience du 5. 12. 1969 (tableau 18).

Il faut signaler que l'exclusion du foie, qui a pour but d'éliminer les mastocytes et ainsi de supprimer la libération d'héparine, peut entraîner, par elle-même, des perturbations de la coagulation.

Cet organe assure l'épuration des activateurs du plasminogène (FLECHTER 35). La suppression de cette fonction entraîne un raccourcissement progressif du temps de lyse des euglobulines chez les animaux hépatectomisés (JANUSKO 64 ; NILEHN 117). Ce phénomène est également observé après les résections importantes du foie et pendant la phase hépatoprive lors des transplantations orthotopiques du foie (BOHMIG 16 ; FLUTE 37 ; GARNIER 45 ; HUTCHINSON 62 ; PECHET 125). Il est donc très probable que le déséquilibre fibrinolytique consécutif à l'injection des hématies incompatibles se trouve ainsi accentué.

Les possibilités de synthèse du fibrinogène et des facteurs du complexe prothrombinique sont également supprimées. Cependant, il nous paraît peu vraisemblable que des déficits puissent en résulter dans un délai aussi bref qu'une heure car la demi-vie biologique des facteurs synthétisés par le foie est voisine de 12 heures.

D'autre part dans nos expériences, la rate se trouve exclue de la circulation du fait même de l'anastomose splénorénale. Le système réticuloendothélial est ainsi pratiquement supprimé. Or il est responsable de l'élimination des hématies incompatibles (MOLLISON 108). On doit donc considérer que les effets de ces hématies sont prolongés et intensifiés.

IV - EFFETS DE L'INJECTION PREALABLE D'HEPARINE SUR LES MODIFICATIONS DE CERTAINS FACTEURS DE L'HEMOSTASE DECLENCHEES PAR L'ADMINISTRATION D'HEMATIES DE RAT.

Nous avons constaté qu'après suppression expérimentale de l'héparine, l'injection d'hématies incompatibles déclenche parfois un syndrome de coagulation intravasculaire. On pourrait supposer que les modifications décelées au cours du choc transfusionnel normal, avant l'apparition spontanée d'héparine, dépendent d'une activation de la coagulation dans la circulation.

S'il en est ainsi l'injection préalable d'héparine devrait, en supprimant l'accélération de la coagulation, faire disparaître les manifestations qui lui sont associées : la diminution du nombre de plaquettes et l'augmentation des activateurs du plasminogène.

Des animaux ayant reçu 1 mg/kg d'héparine par voie intraveineuse ont été utilisés afin d'éclaircir ce point.

L'évolution du nombre de plaquettes et du temps de lyse des euglobulines est représentée dans le tableau 20. On constate que la thrombopénie et l'activation du système fibrinolytique persistent et qu'en conséquence, il s'agit de manifestations indépendantes de l'accélération de la coagulation.

Cette conclusion va à l'encontre de l'hypothèse formulée par HARDAWAY (56), selon laquelle les plaquettes disparaissent de la circulation en raison de leur participation à une coagulation intravasculaire. D'autre part on ne peut considérer l'activation initiale de la fibrinolyse comme une réaction relevant d'un tel mécanisme.

EXPERIENCE DU 14. 1. 1969 CHIEN ♂ 18 kg

	Hb plasmatique (g/l)	Plaquettes/mm ³	T. de lyse des euglobulines
<u>Héparine</u> 25 mg →			
témoin	0	332 000	45 mn
<u>18 cm³ hématies de</u>			
<u>rat</u> ----- 10 h 34 →			
10 h 35	4,4	64 000	16 mn
10 h 39	3,3	60 000	18 mn
10 h 49	3,4	64 000	35 mn
11 h 50	2,9	172 000	
12 h 50	2,3	202 000	18 mn
14 h 10	1,9	196 000	30 mn
15 h 10	1,5	208 000	42 mn

Tableau 20

Evolution du nombre de plaquettes et du temps
de lyse des euglobulines chez un chien hépariné.

CONCLUSIONS RELATIVES AU ROLE DE L'HEPARINE

Nous avons constaté qu'il se produit chez le chien, une libération spontanée d'héparine à la suite d'injection d'hématies incompatibles.

Lorsqu'on neutralise cet anticoagulant ou qu'on empêche son apparition, une coagulation intravasculaire est possible. Dans nos conditions expérimentales, où la quantité d'hématies injectées ne dépasse pas $2 \text{ cm}^3/\text{kg}$, ce phénomène ne survient généralement que chez les animaux préalablement immunisés.

L'altération du système réticuloendothélial favorise ce processus. Il se manifeste soit par une thrombose massive, soit par des déficits en facteurs de coagulation caractéristiques d'une coagulation intravasculaire diffuse ; la persistance de la thrombopénie et la diminution du taux d'accélérine sont les modifications les plus constantes ; parfois apparaît une diminution du taux de prothrombine.

Ainsi l'héparine, spontanément libérée, empêche l'activation intravasculaire de la coagulation qui survient dans certaines conditions de choc. Elle peut, d'autre part, atténuer l'activité fibrinolytique. GLAZKO (46) a constaté que cette substance possède une activité anti-protéasique lorsque sa concentration est élevée. Cependant même à faible dose, de 0,5 à 2,5 u/ml de plasma, elle entraîne une certaine inhibition des activateurs de la fibrinolyse (NILSSON 118).

QUATRIEME PARTIE

DISCUSSION DES MECANISMES

- : -

Notre étude sur les modifications de la coagulation au cours du choc transfusionnel aboutit aux résultats suivants : il se produit une accélération de la coagulation, une thrombopénie, une augmentation des activateurs du plasminogène ; il apparaît ensuite de l'héparine. La neutralisation de l'héparine, effectuée au cours des chocs prolongés, risque d'entraîner une coagulation intravasculaire.

Ces modifications sont partiellement indépendantes les unes des autres : l'apparition d'héparine peut être évitée isolément ; l'hypercoagulabilité peut être supprimée sans que disparaissent ni la thrombopénie ni l'activation de la fibrinolyse. Ces manifestations résultent donc de mécanismes distincts.

Deux facteurs semblent intervenir : la réaction immunologique et l'hémolyse. Nous analyserons l'origine des anomalies observées en tenant compte des influences humorales et cellulaires de chacun de ces facteurs.

I - Origine de l'héparine

Nous avons constaté qu'elle apparaît dans le sang conjointement avec l'histamine et qu'il existe une corrélation statistique ($P = 0,05$) entre les taux maxima de ces deux substances.

Un exemple typique de l'évolution de ces deux substances est présenté dans la fig. 20. Les variations de la pression artérielle ont été indiquées car c'est pendant la chute tensionnelle que se produisent les modifications.

La décharge atteint son maximum 2 à 3 mn après l'injection d'hématies de rat. Son importance dépend du degré d'immunisation des chiens mais elle varie également d'un animal à l'autre.

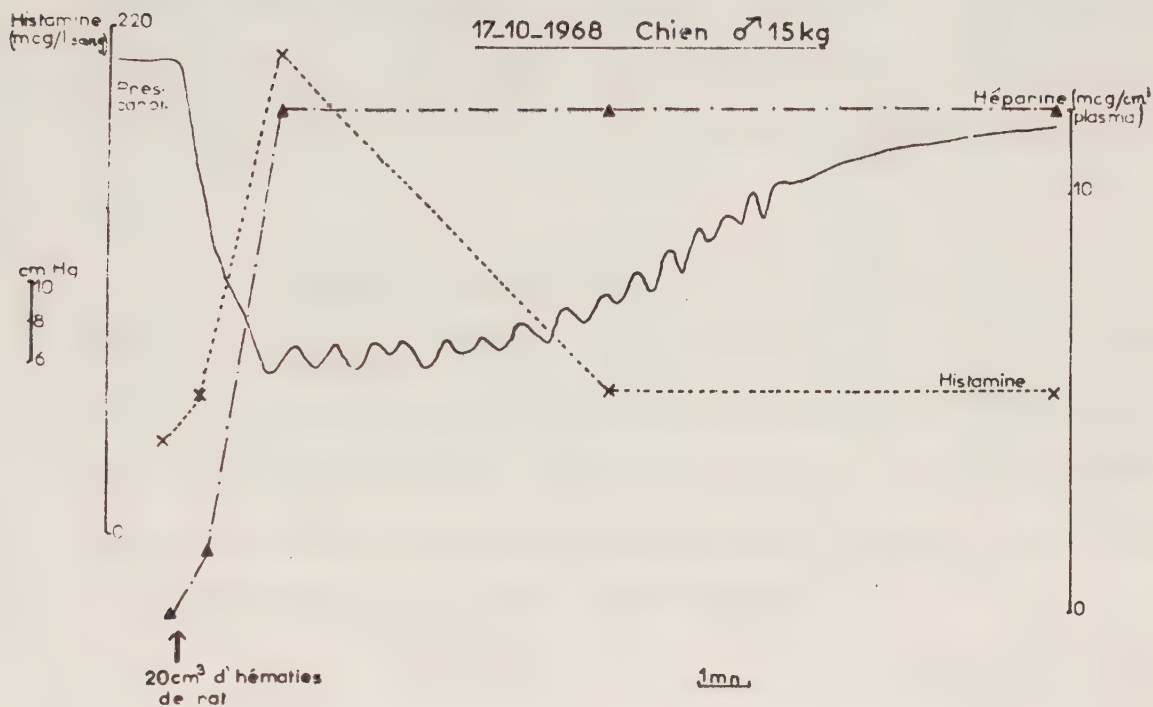


Figure 20

Evolution de la pression artérielle et des taux d'histamine et d'héparine à la suite d'une injection d'hématies de rat.

Pendant que la pression artérielle s'abaisse, l'héparine et l'histamine apparaissent simultanément dans le sang. L'hypotension est pratiquement corrigée en 20 mn ; l'histamine disparaît en 10 mn ; l'héparine reste en circulation pendant 3 heures.

Chez les chiens non préparés, la concentration d'héparine, après injection des hématies de rat, ne dépasse pas $12 \mu\text{g/ml}$ de plasma. Le taux d'histamine est rarement supérieur à $250 \mu\text{g/ml}$ de sang et revient à la normale en 10 minutes (fig. 21).

Chez l'animal sensibilisé, les valeurs sont nettement plus élevées. Des concentrations d'héparine de 25 à $50 \mu\text{g/ml}$ de plasma sont fréquentes. L'histaminémie peut atteindre $500 \mu\text{g/l}$ de sang et il faut alors attendre 20 minutes pour qu'elle revienne à sa valeur initiale.

Lorsque les animaux n'ont subi aucun traitement préalable, nous avons toujours observé, après l'injection de $1-2 \text{ cm}^3/\text{kg}$ d'hématies de rat, une libération simultanée d'héparine et d'histamine, quelle que soit l'importance de cette décharge. Cette relation est confirmée par les expériences au cours desquelles l'héparine a été éliminée car simultanément l'histamine a été supprimée.

Après l'exclusion vasculaire du foie, nous avons contrôlé, par des tests de coagulation, l'absence de libération d'héparine. Le taux d'histamine, déterminé et enregistré sur Technicon, n'est pas modifié par l'injection des hématies incompatibles qui, dans ces conditions, déclenche toujours une hypotension (fig. 22).

L'administration préalable de bromure d'hexadiméthrine (polybrène) a des effets comparables. L'expérience présentée dans la fig. 23 montre que le taux d'histamine ne s'élève pas au-dessus de sa valeur initiale qui est de $63 \mu\text{g/l}$ de sang. Toutefois, les dosages très précis révèlent une très légère augmentation à la suite de l'injection des hématies. Ce phénomène paraît minime par rapport aux décharges précédemment décrites.

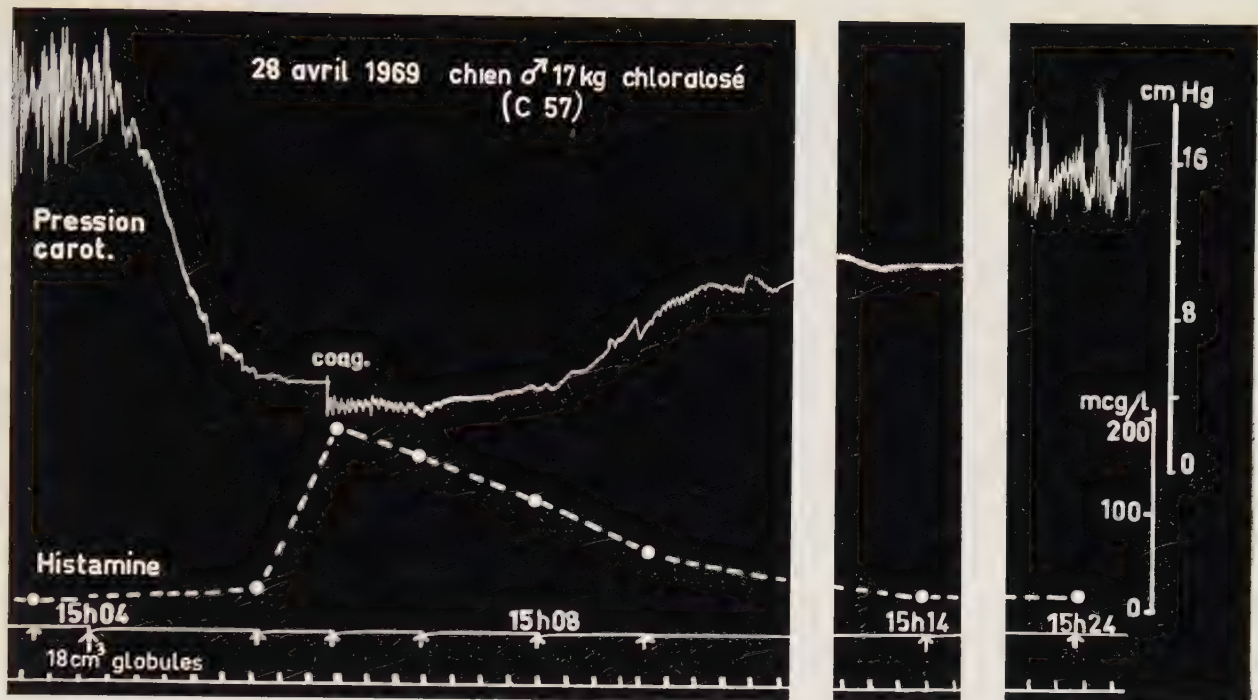


Figure 21

Evolution du taux d'histamine après injection de globules rouges de rat, chez un chien normal.

15 h 04 = injection de 18 cm³ de globules rouges de rat.

Les prélèvements du sang destiné au dosage sont indiqués par des petites flèches.

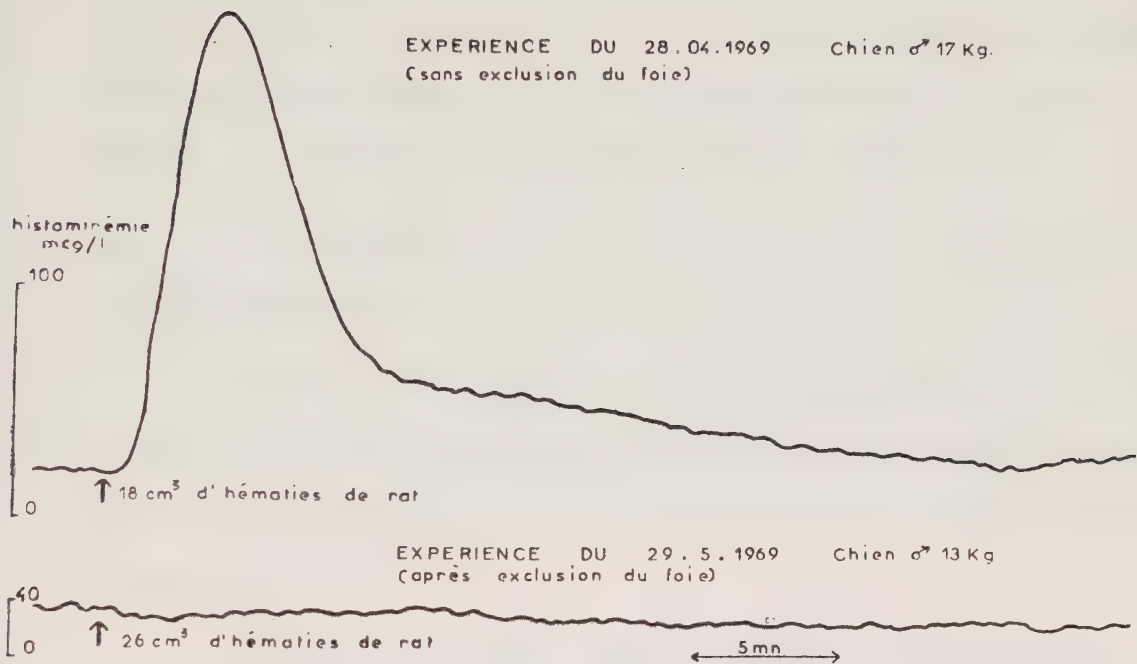


Figure 22

Evolution du taux d'histamine après injection d'hématies de rat.
Détermination et enregistrement sur Technicon.

- Le tracé supérieur est obtenu chez un chien normal. La concentration s'élève rapidement de 20 mcg/l à 230 mcg/l de sang.
- Le tracé inférieur est obtenu chez un chien dont le foie est exclu de la circulation. Le taux d'histamine n'est pratiquement pas modifié pendant le choc. D'autre part, il n'y a pas d'héparine libérée (troisième partie, chap. III).

L'apport de sulfate de protamine entraîne des modifications de même nature. L'injection d'hématies de rat déclenche une hypotension importante alors que le taux d'histamine reste pratiquement constant. Comme dans le cas du polybrène, il se produit une légère augmentation de 18 à 30 $\mu\text{g/l}$ que l'échelle utilisée dans la fig. 24 ne permet pas de voir. Nous avons présenté, à titre de comparaison, le résultat d'une injection d'histamine : une quantité de 800 μg est nécessaire pour obtenir une hypotension comparable au choc transfusionnel.

Ces résultats sont superposables à ceux obtenus au cours du choc anaphylactique.

MANWARING (103) a constaté qu'il apparaît, au cours du choc anaphylactique, une substance qui possède, sur les muscles lisses, les propriétés de l'histamine. Elle n'est pas présente lorsque le foie est retiré.

CODE (22) a utilisé, pour déterminer la concentration d'histamine sanguine, une méthode biologique fondée sur les contractions de l'iléon de cobaye. L'élévation du taux d'histamine est suffisante pour entraîner une hypotension mais elle ne permet pas de rendre compte de l'importance du choc.

De son côté, JAKUES (65) est parvenu à extraire l'anticoagulant présent dans le sang récolté au cours du choc anaphylactique chez le chien. Après l'avoir cristallisé, il a pu l'identifier comme étant de l'héparine. D'autre part, il a remarqué que l'hépatectomie supprime l'apparition d'héparine dont l'origine hépatique était soupçonnée depuis les travaux de NOLF (120).

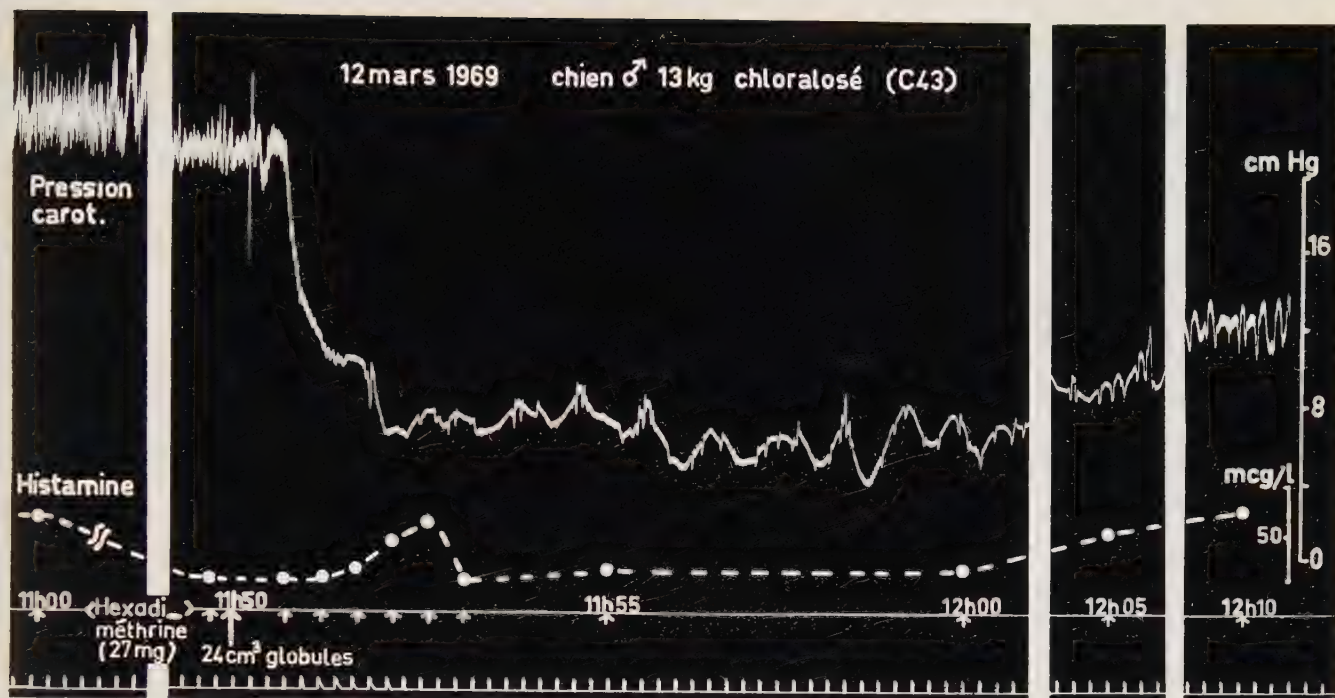


Figure 23

Evolution du taux d'histamine après injection de globules rouges de rat chez un chien ayant reçu préalablement du bromure d'hexadiméthrine (= polybrène).

11 h 00 : témoin (1) : 63 μ g/l de sang;

11 h 08 à 11 h 35 = perfusion de bromure d'hexadiméthrine à la vitesse de 1 mg/mn . La pression artérielle n'est pratiquement pas modifiée pendant cette période;

11 h 49 : témoin (2), la concentration d'histamine s'est abaissée à 10 μ g/l;

11 h 50 = injection de 24 cm³ de globules rouges de rat. Le taux d'histamine s'élève légèrement mais ne dépasse pas sa valeur initiale.

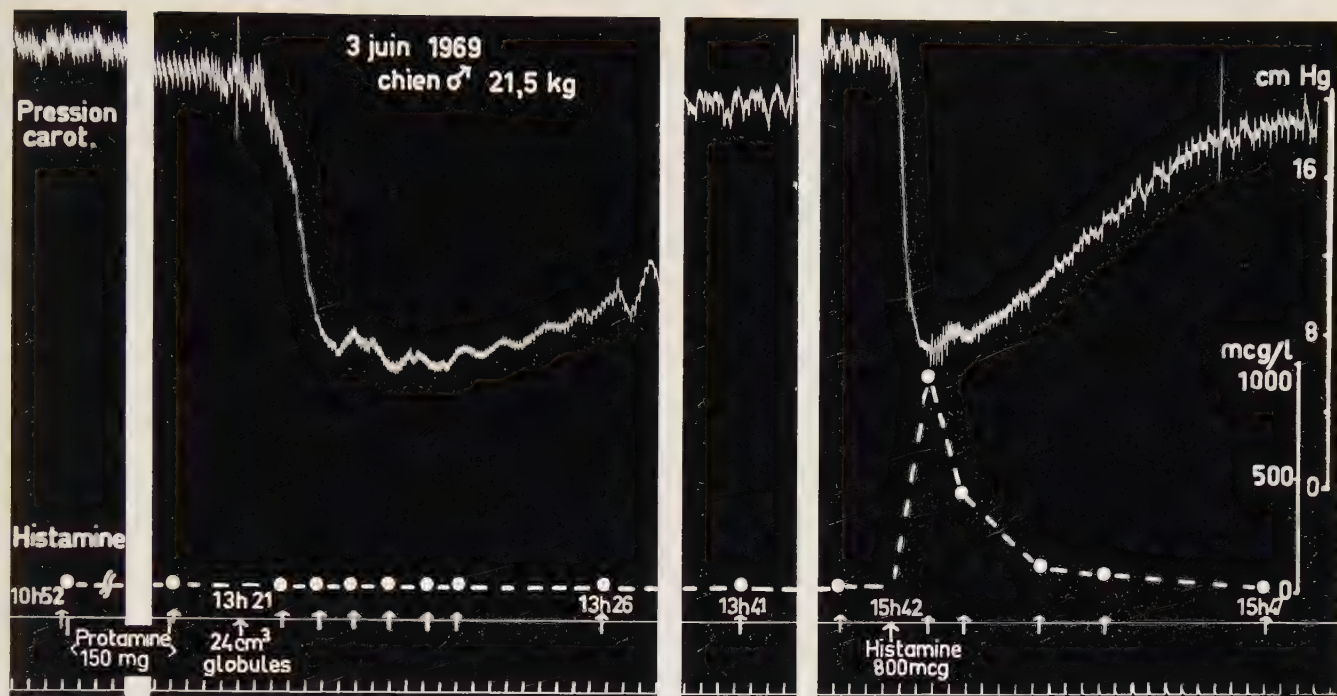


Figure 24

Evolution du taux d'histamine après injection de globules rouges de rat chez un chien ayant préalablement reçu du sulfate de protamine.

10 h 52 : témoin (1) : 36 $\mu\text{g/l}$ de sang;

10 h 45 à 13 h 15 = perfusion de sulfate de protamine;

13 h 20 : témoin (2) : 18 $\mu\text{g/l}$;

13 h 21 : injection de 24 cm³ de globules rouges de rat. La concentration d'histamine oscille entre 18 et 30 $\mu\text{g/l}$;

15 h 42 : il faut injecter 800 μg d'histamine pour obtenir une hypotension comparable à celle déclenchée par l'apport d'hématies de rat.

Des études plus précises ont permis de déterminer l'origine cellulaire de l'héparine et de l'histamine.

ARVY (6) a montré que les mastocytes ("Mastzellen ; labrocytes ; héparinocytes") s'appauvrissent en granules métachromatiques et que la quantité d'héparine libérée est liée à l'intensité de cette dégranulation.

Plusieurs travaux ont été consacrés aux réactions des mastocytes isolés. Les expérimentateurs utilisent généralement les mastocytes péritonéaux de rat dont l'obtention et la préparation s'avèrent relativement aisées. Les résultats rapportés par ARCHER (3-4) ont l'intérêt de fournir des renseignements histologiques et biochimiques. La "rupture" des mastocytes de rat, induite in vitro par un système antigène-anticorps-complément, s'accompagne de l'apparition d'histamine. Chez le rat, l'héparine n'est libérée dans le milieu extérieur qu'après destruction des mastocytes par congélation ou par traitement à la trypsine. Ainsi, les mastocytes d'espèces animales différentes ne réagissent pas de la même façon au conflit immunologique. Ces divergences sont peut-être liées au mode de stockage de l'histamine et de l'héparine. Les recherches effectuées par THON (153-154) à ce sujet suggèrent que, dans les granules des mastocytes de rat, l'histamine est associée, par une liaison électrostatique faible (de type $-COO^-$) à l'héparine, elle-même liée, par un groupe SO_3^- à une protéine. Les concentrations trouvées dans les mastocytes de rat sont les suivantes : héparine = $70 \mu\text{g}/10^6$ cellules ; histamine = $10 - 15 \mu\text{g}/10^6$ cellules.

La réaction antigène-anticorps déclenche plusieurs modifications successives :

1° - Les granules métachromatiques sont émis hors des mastocytes. Ce processus exige un apport d'énergie.

2° - L'histamine serait libérée par un simple échange cationique avec le milieu extérieur.

Des altérations semblables peuvent être engendrées par l'apport de différentes substances parmi lesquelles nous retiendrons les polyamines synthétiques telles que le "48/80", l'octylamine, la protamine et l'hexadiméthrine (= polybrène^{*}) (SELYE 143 a). Nous avons utilisé ces dernières comme antagonistes de l'héparine et vraisemblablement nous avons ainsi perturbé les réactions des mastocytes. L'absence de libération d'histamine, à la suite de l'injection des hématies incompatibles, pourrait provenir d'un épuisement préalable des mastocytes. Toutefois nous n'avons pas observé d'hypotension artérielle ni d'hyperhistaminémie pendant la perfusion de la protamine ou du polybrène^{*}. Cette remarque ne constitue ni un argument ni une objection à l'hypothèse d'une dégranulation des mastocytes car celle-ci a pu se produire lentement sans que nous l'ayons décelée.

Les analogies constatées entre le choc transfusionnel hémolytique et le choc anaphylactique nous incitent à déduire que l'injection d'hématies incompatibles provoque une dégranulation mastocytaire qui contribue à la fois à l'hypotension et à l'hypocoagulabilité sanguine.

II - Origine de l'augmentation des activateurs du plasminogène

a - L'accélération de la fibrinolyse semble fréquemment associée à la réaction antigène-anticorps :

- elle est observée au cours du choc anaphylactique par ROCHA et SILVA (138).

- elle semble provenir en partie d'une réaction sérique (UNGAR 157). In vitro la formation de complexes antigène-anticorps engendre une activation de la fibrinolyse qui persiste peu de temps.

- d'autre part les tissus, en particulier les poumons, libèrent des activateurs fibrinolytiques (UNGAR 156). Dans ce domaine on ignore le rôle des mastocytes qui contiennent des enzymes protéolytiques homologues de la chymotrypsine (BENDITT 10) et de la trypsine (LAGUNOFF 78), peut être associés à l'héparine.

b - Dans nos expériences nous avons remarqué que cette activation de la fibrinolyse est concomitante des variations de la pression artérielle (fig. 25 - 26) ; elle se manifeste uniquement pendant le fléchissement tensionnel. La corrélation entre la baisse de la pression artérielle et le raccourcissement du temps de lyse des euglobulines est statistiquement significative (fig. 26). Plusieurs arguments justifient cette relation entre le choc et la fibrinolyse :

- L'hypotension, qu'elle qu'en soit l'origine, met en jeu des mécanismes de compensation qui aboutissent à une augmentation de la sécrétion d'adrénaline. Ceci se produit également au cours du choc histaminique ou anaphylactique (MALMEJAC 100 - 101). Or l'adrénaline accélère légèrement la fibrinolyse (KWANN 77 ; AMBANELLI 2).

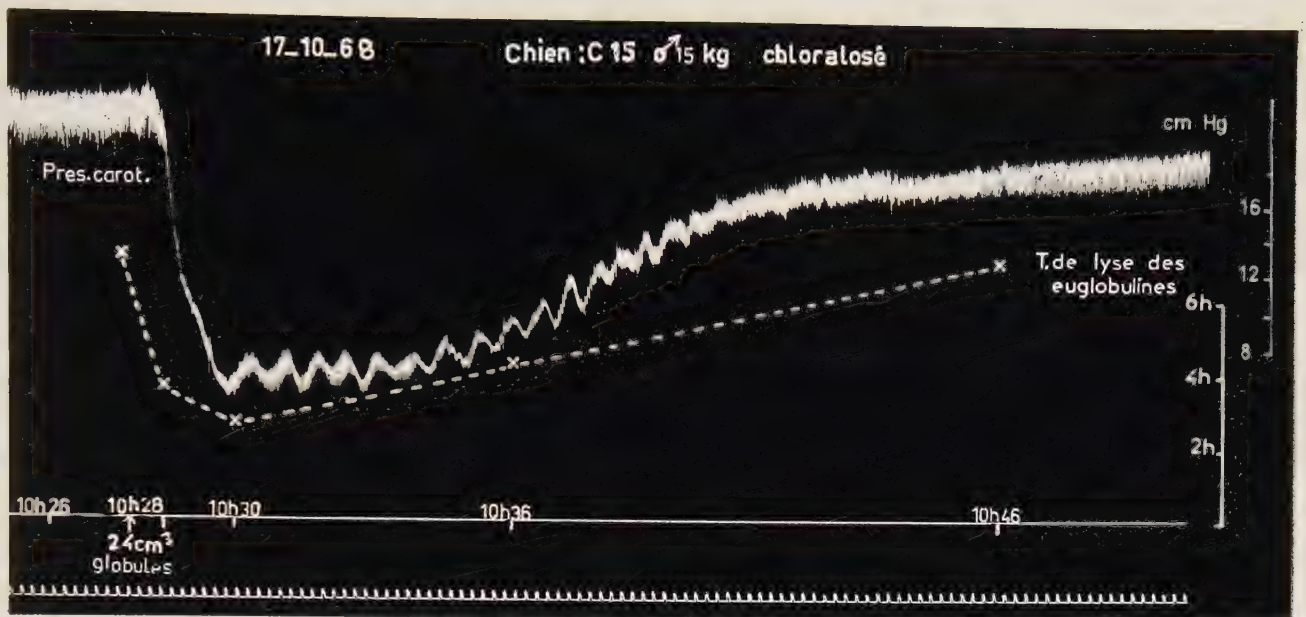


Figure 25

Evolution comparée de la pression artérielle et du temps de lyse des euglobulines à la suite d'une injection de globules rouges de rat chez le chien.

L'augmentation des activateurs du plasminogène se produit pendant la diminution de la pression artérielle.

- L'hypotension peut entraîner une ischémie tissulaire qui selon KWANN (75) et NERI SERNERI (113), s'accompagne d'une activation fibrinolytique. A ce sujet nous signalons que la lactacidémie s'élève de 17 à 46 mg % pendant le choc et reflète ainsi les modifications du métabolisme cellulaire.

- A ces phénomènes qui sont indépendants de l'origine de l'hypotension s'ajoute, dans le cas du choc immunologique, un trouble de la circulation hépatique. Le phénomène semble particulier au chien. Il s'agit d'un spasme veineux sushépatique qui entraîne une stase sanguine dans le territoire porte (MALMEJAC 95). Il paraît dû en partie à l'action de l'histamine (DALE 23). La formation de bradykinine mentionnée par de nombreux auteurs : (BERALDO 11 ; BROCKLEHURST 19 ; DAWSON 24 ; CIRSTEIA 21 ; GREEF 48 ; LECOMTE 87) pourrait y contribuer par son action vénoconstrictrice (GUTH 52 ; ROWLEY 141). De leur côté BINET et coll. (13) considèrent que le choc transfusionnel est déterminé essentiellement par cette contraction des veines sushépatiques. Si nous admettons un tel fait, il est logique de penser que, durant cette période où le foie est mal irrigué, l'élimination, essentielle-ment hépatique, des activateurs du plasminogène est réduite. Les observations de HOLEMANS (60), montrant l'accélération du temps de lyse des euglobulines à la suite d'injection d'histamine, semblent en accord avec cette interprétation.

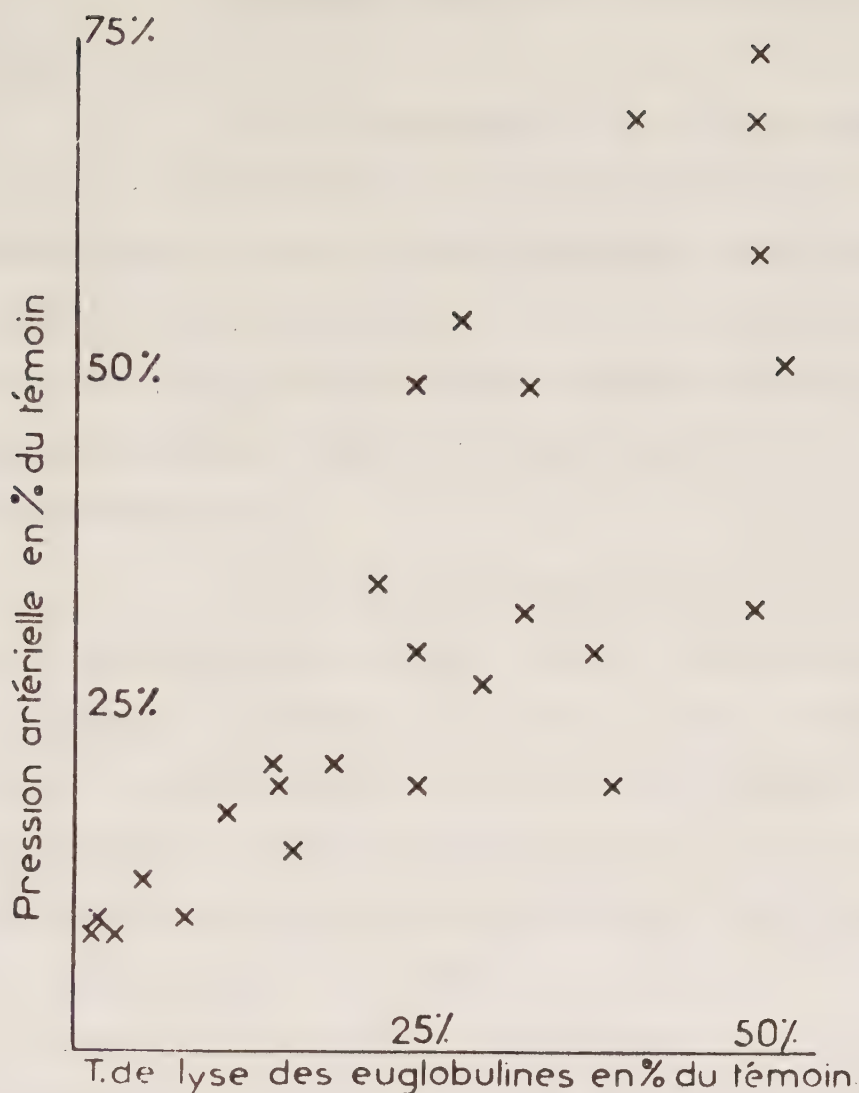


Figure 26

Corrélation entre la diminution de la pression artérielle et le raccourcissement du temps de lyse des euglobulines, pendant le choc déclenché chez le chien par l'apport d'hématies de rat.

Les variables sont exprimées en % des valeurs témoins (déterminées avant l'agression) car les valeurs normales du temps de lyse des euglobulines sont assez dispersées.

La relation entre les deux phénomènes est statistiquement significative ($P = 0,01$) pendant la diminution de la pression artérielle. Par contre la liaison disparaît pendant la remontée de la pression artérielle. Il ne s'agit donc pas d'une relation directe.

III - Origine de l'accélération de la coagulation

Elle semble tributaire du choc et de l'apport d'hématies de rat.

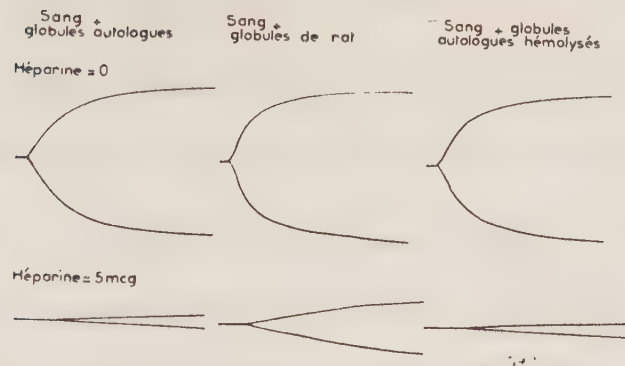
a - L'augmentation de la sécrétion médullosurrénale que l'hypotension déclenche contribue à accélérer la coagulation. Les données en faveur de cette action de l'adrénaline sont nombreuses (AMBANELLI 2 ; FORWELL 38 ; KLEIN 72 ; WACHHOLDER 160 ; WENZEL 162). Elle agirait en favorisant la libération de substances thromboplastiques à partir de l'endothélium vasculaire (SHIMAMOTO 145).

b - La lyse des hématies incompatibles entraîne la mise en circulation de stromas érythrocytaires. Leur activité thromboplastique in vitro est signalée par de nombreux auteurs (SHINOWARA 146 ; QUICK 131 ; DESMET 26 ; SERAFINI 144). In vivo l'hémolyse semble responsable de l'hypercoagulabilité observée par EGEBERG (31) à la suite d'injection de sang autologue hémolysé. Ainsi il apparaît que la lyse intravasculaire des hématies de rat participe à l'accélération de la coagulation. La présence d'un constituant érythrocytaire analogue au facteur 3 plaquettaire (LAMBERT 80) peut contrebalancer en partie l'effet de la thrombopénie dans la génération de thromboplastines.

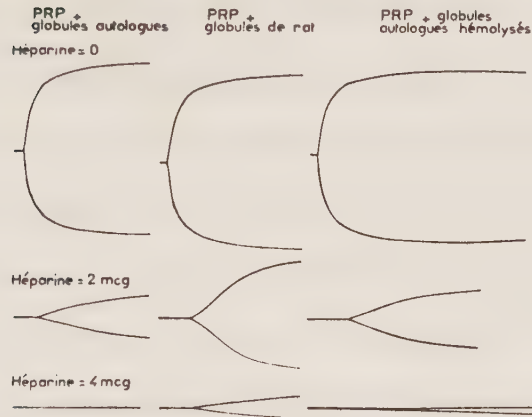
En outre, il nous semble que les stromas renforcent les qualités mécaniques du caillot. En effet, nous avons constaté qu'immédiatement après l'injection des hématies incompatibles, l'amplitude du thrombélastogramme est anormalement élevée par rapport au nombre de plaquettes.

Signalons aussi que l'action antihéparinique des stromas (QUICK 132 ; POPLANSKI 129) est susceptible d'atténuer l'effet de l'héparine endogène. Nous avons vérifié qu'à cet égard, l'action des hématies de rat sur un plasma hépariné de chien est légèrement supérieure à celle d'hématies autologues hémolysées (fig. 27). Ce mécanisme ne doit pas jouer un grand rôle dans nos expériences car la quantité d'hématies injectées est relativement modérée. Par contre il est possible que l'héparine endogène soit complètement neutralisée lors d'une injection importante. La formation de microthromboses deviendrait alors plus probable.

Action de globules rouges sur le TEG d'un sang hépariné



Action de globules rouges sur le TEG d'un plasma riche en plaquettes en présence d'héparine



Action de globules rouges sur le TEG d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'héparine

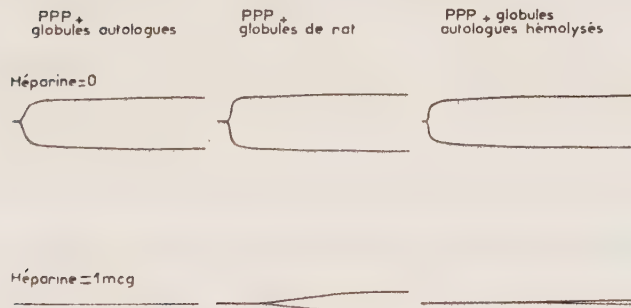


Figure 27

Action in vitro de globules rouges de rat sur du sang de chien. Comparaison avec l'effet de globules autologues intacts et hémolysés. Thrombélustogrammes réalisés sur sang citraté, sur plasma riche en plaquettes (PRP) et sur plasma pauvre en plaquettes (PPP); en présence et en l'absence d'héparine.

Le mélange est fait dans la cuve dans les proportions suivantes (en cm³) :

0,20 sang ou plasma citraté

0,05 héparine ou soluté physiologique

0,05 culot globulaire lavé trois fois au soluté physiologique

0,05 Ca Cl₂ 3,58 %

L'addition d'hématies de rat ou d'hématies autologues hémolysées ne modifie pas les thrombélustogrammes du sang ou du plasma non héparinés. Par contre, en présence d'héparine, les hématies incompatibles et les stromas d'hématies autologues raccourcissent le temps de latence et augmentent l'amplitude des diagrammes.

IV - Origine de la thrombopénie

Nous examinerons ici les répercussions de la formation d'immunocomplexe et de la coagulation intravasculaire sur les plaquettes.

La thrombopénie est un phénomène souvent mentionné au cours du choc anaphylactique (LEE 88 ; ZUNZ 167 ; ADAMS 1 ; LAMBERT 81 ; BLOMBACK 14). Les observations de ROCHA et SILVA (139) suggérant que les plaquettes sont lysées au moment de la formation du complexe antigène-anticorps, ne sont pas conciliables avec la récupération rapide d'un nombre de plaquettes normal. BETTEX - GALAND (12) a montré qu'in vitro la formation d'immun complexe entraîne la métamorphose visqueuse des plaquettes et leur agglutination. Ces résultats ont été récemment confirmés par LUSCHER (93 - 94). Il pourrait s'agir d'un phénomène d'immuno-adhérence tributaire de l'activation du complément (SIQUEIRA 147 ; GOCKE 47): le complexe antigène-anticorps en présence du complément, se fixe sur des particules, globules rouges ou plaquettes et provoque leur agglutination. Les résultats de GUERRA (50) concernant l'évolution des plaquettes au cours du choc transfusionnel chez le lapin confirment les indications obtenues in vitro : les plaquettes adhèrent aux agglutinats érythrocytaires et sont momentanément séquestrées au niveau du foie. Cette immobilisation provisoire expliquerait la réversibilité rapide de la thrombopénie.

Dans les conditions normales, la diminution du nombre de plaquettes n'est pas secondaire à une coagulation intravasculaire puisqu'elle se manifeste chez l'animal hépariné recevant des hématies incompatibles. C'est à la même conclusion que parvient LAMBERT (81) mais il remarque que chez le lapin existe, au cours du choc anaphylactique,

une diminution plus tardive des plaquettes qu'un traitement à l'héparine fait disparaître. Selon cet auteur, cette deuxième phase thrombopénique serait synchrone d'une coagulation intravasculaire.

Lorsqu'il se produit une coagulation dans le lit vasculaire ce qui survient parfois après élimination de l'héparine endogène, la thrombopénie persiste plusieurs heures. On peut alors penser que les plaquettes sont englobées dans les caillots formés.

V - Origine de la coagulation intravasculaire

C'est un phénomène que nous n'observons qu'en l'absence d'héparine et uniquement dans les cas de chocs graves.

Cependant OTTENBERG (123) signale la présence de matériel hyalin, ressemblant à la fibrine, dans la veine portée de chiens décédés des suites d'une transfusion incompatible. D'autre part la présence de microcaillots rapportés par HARDAWAY semble un argument irréfutable de l'activation de la coagulation dans le lit vasculaire.

Quelles sont les causes de ce phénomène ?

A quoi tiennent les divergences constatées ?

Il est possible que chez le lapin le conflit immunologique soit responsable de l'activation intravasculaire de la coagulation ainsi que le supposent LAMBERT (81) et BLOMBACK (14). La métamorphose visqueuse des plaquettes déclenchée par la formation du complexe immunologique pourrait effectivement amorcer le processus de coagulation. Ce n'est cependant qu'une hypothèse.

L'influence de l'hémolyse intravasculaire est beaucoup plus certaine. Elle a été confirmée expérimentalement. L'activité thromboplastique des hématies lysées peut être à l'origine d'une coagulation intravasculaire et d'un syndrome hémorragique dans certaines conditions :

- WOOLRIDGE (163) est le premier à avoir soupçonné en 1886, le rôle des stromas érythrocytaires dans la coagulation. Chez le lapin l'injection massive de fragments d'hématies déclenche une thrombose ; lorsque la quantité administrée est moins importante le sang devient hypocoagulable.

- Chez le chien la perfusion d'hémolysat autologue accélère la coagulation de façon transitoire. Dans ces conditions, ses répercussions sur la coagulabilité globale paraissent minimales. Par contre, l'administration de cet hémolysat en période d'hypotension hémorragique engendre des perturbations comparables à celles déclenchées par une coagulation intravasculaire. Elles se manifestent par une diminution du nombre de plaquettes et un appauvrissement en facteur VIII, V et en fibrinogène. L'apparition secondaire de produits de dégradation de la fibrine témoigne de la lyse de la fibrine in situ (DOSNE 29).

- Les travaux de RABINER (133) montrent que la saturation du système réticuloendothélial favorise cette coagulation intravasculaire.

Nos résultats confirment l'importance des perturbations circulatoires dans le déclenchement de coagulation intravasculaire. Il est intéressant de noter que FUNCK - BRENTANO (42) a fait, chez l'homme, une constatation similaire, à propos des troubles rénaux ; la gravité de ceux-ci semble liée à celle de l'hypotension.

Chez le chien, il est vraisemblable que la quantité d'hématies administrées détermine l'évolution de la coagulation. Les effets d'une hémolyse modérée sont masqués par l'héparine libérée au cours du choc. Par contre, cet inhibiteur risque d'être neutralisé en cas d'hémolyse importante ; l'activation de la coagulation sanguine dans le lit vasculaire peut alors être prédominante.

VI - Rôle du complément

Il semble que la mobilisation du complément (HADNAGY 51) soit à l'origine de nombreuses perturbations :

- On sait que sa fixation est nécessaire à l'hémolyse des hématies agglutinées.

- Sa présence est indispensable à la dégranulation des mastocytes (ARCHER 3) ; sa concentration doit être nettement supérieure à celle exigée pour l'hémolyse (KELLER 68). L'agglutination des plaquettes observée in vitro sous l'action de complexe antigène-anticorps requiert également la présence du complément (GOCKE 47).

- D'autre part on observe au cours de l'activation du complément, la formation d'enzymes protéolytiques (LEPOW 89) dont certains dégradent la fibrine (UNGAR 157).

- En outre, certains faits suggèrent que le complément joue un rôle dans le déclenchement du choc (FRIEDBERGER 40). Cette hypothèse est difficile à vérifier car d'autres mécanismes interviennent. Cependant il est établi que l'histamine ne rend pas compte, à elle seule, de l'hypotension car celle-ci subsiste en l'absence de cette amine (DOSNE 30 ; SALMON 143). La participation de bradykinine reste discutée (LECOMTE 87). C'est peut être dans le processus d'activation du complément qu'il faut rechercher l'explication du parallélisme entre la baisse de la pression artérielle et l'activation fibrinolytique.

En conclusion il semble que les modifications observées résultent de l'interférence de mécanismes mis en jeu par l'activation du complément et par la présence de stromas dans la circulation.

Ces différentes réactions sont schématiquement représentées dans le tableau suivant.

o o
 o

Si, chez le chien, les effets sur la coagulation sanguine, du conflit immunologique et de l'hémolyse intravasculaire sont opposés en raison de la libération d'héparine, il en va différemment chez les autres espèces animales. Il semble que, chez le lapin et chez le cobaye, l'héparine n'apparaisse pas au cours du choc anaphylactique (ADAMS 1) ou alors en quantité très faible (BLOMBACK 14) ; on peut donc s'attendre à ce que les effets de l'hémolyse intravasculaire soient alors prépondérants.

Nous remarquerons, d'autre part, que les plaquettes sont parfois lysées et non simplement agglutinées lorsqu'elles sont en présence d'un complexe antigène-anticorps-complément (GOCKE 47). Une libération de facteur thromboplastique et de facteur antihéparinique plaquettaire contribuerait ainsi à masquer l'héparine et à renforcer l'action coagulante des stromas érythrocytaires.

Les renseignements obtenus chez l'homme sont ambigus. Rappelons qu'un anticoagulant est parfois décelé mais que sa nature n'est pas déterminée. L'éventualité d'un passage d'héparine dans le sang ne peut être à priori exclue car il semble qu'un tel fait peut se produire dans les mastocytoses hépatiques et cutanées (WATERS 161 ; HERZBERG 59 ; URBACH 158).

Cependant certaines observations cliniques récentes suggèrent que les troubles de l'hémostase proviennent d'une coagulation intravasculaire car ils sont corrigés par l'administration d'héparine (LICHT 92 ; ROCK 140 ; KLUGE 73).

Il est intéressant de signaler que certains de ces accidents sont dûs à des agglutinines qui ne fixent pas le complément. Or MOLLISSON (108) et STIFFEL (150) ont montré que la nature de l'anticorps, sa concentration et sa possibilité de fixer le complément déterminent le lieu de destruction, la vitesse et le mode d'épuration des hématies incompatibles. Il est très probable que ces paramètres immunologiques auxquels s'ajoute la quantité d'hématies injectées, influencent les perturbations de l'hémostase.

CONCLUSIONS

- : -

L'étude effectuée sur le choc transfusionnel hémolytique chez le chien nous permet d'apporter quelques précisions sur la nature des anomalies de l'hémostase et sur les mécanismes impliqués dans leur genèse.

Nous nous sommes attachés à suivre l'évolution de certains paramètres de la coagulation qui actuellement reste l'objet de discussions ; il s'agit de la prothrombine, du fibrinogène, de l'activation du système fibrinolytique et de la présence éventuelle d'inhibiteurs.

Nous nous sommes efforcés de mettre en évidence les conditions favorables au déclenchement d'une coagulation intravasculaire et d'une fibrinolyse, processus dont la participation soulève des objections.

D'autre part nous avons été conduits à établir des relations entre les modifications de la coagulation et l'hypotension artérielle déclenchées par l'administration d'hématies incompatibles.

I - Effets de l'injection d'hématies de rat.

L'injection d'hématies de rat déclenche des altérations de la coagulation qui varient selon la quantité administrée et selon le degré d'immunisation des animaux.

Une faible quantité d'hématies ($0,4 - 0,8 \text{ cm}^3/\text{kg}$) entraîne une accélération de la coagulation associée à une diminution des qualités mécaniques du caillot formé. Celle-ci est liée à une thrombopénie marquée.

Simultanément se produit une brève augmentation des activateurs du plasminogène. Les répercussions, sur la coagulabilité globale, de cette légère activation du système fibrinolytique passent généralement inaperçues.

Lorsque la quantité d'hématies injectées est plus importante (1 - 2 cm³/kg), les précédentes modifications sont suivies d'un ralentissement important de la coagulation qui est dû à la présence d'héparine endogène. Chez l'animal non préparé, les deux phases peuvent être dissociées car l'héparine n'est décelable qu'après un délai variant de 1 à 4 minutes. Chez l'animal très immunisé, cet inhibiteur apparaît plus précocement et en quantité importante.

Certains chiens ont été gardés en observation pendant un mois et nous avons constaté que les animaux ayant survécu au collapsus ne présentent pas de troubles ultérieurs.

Ces résultats suggèrent que deux anomalies concourent à perturber la coagulation : la présence d'héparine et la diminution du nombre de plaquettes. Cette interprétation est confirmée par les effets de la neutralisation in vitro de l'héparine. Il en est de même in vivo sous réserve que la neutralisation de l'héparine soit pratiquée lorsque l'hypotension est corrigée. Par contre, en période de collapsus, il se produit une diminution du taux de fibrinogène, de prothrombine et d'accélélerine.

Nous avons ainsi été conduits à envisager l'éventualité d'une coagulation intravasculaire et à rechercher si l'héparine spontanément libérée chez le chien s'oppose à un tel processus.

II - Analyse expérimentale du rôle de l'héparine

Deux méthodes ont été utilisées pour cette étude :

- Nous avons empêché l'apparition d'héparine endogène par l'administration préventive d'antagonistes (sulfate de protamine ou polybrène) ou par l'exclusion préalable du foie.

- Inversement les animaux ont été héparinés avant l'administration des hématies incompatibles.

1° - Effets de la suppression de l'héparine

Lorsque le choc est important, ce qui est fréquent chez les animaux très immunisés, l'injection d'hématies incompatibles peut, en l'absence d'héparine, déclencher une coagulation intravasculaire à laquelle succède une fibrinolyse aigüe. Ces phénomènes se manifestent par une fugitive accélération de la coagulation qui est suivie d'un ralentissement considérable. Plusieurs anomalies contribuent à ce retard : une thrombopénie persistante et des déficits portant sur le fibrinogène, l'acclérine et la prothrombine. Le taux des produits de dégradation du fibrinogène et de la fibrine (dosés par une réaction d'inhibition d'hémagglutination) s'élève progressivement. Leur abondance permet de les déceler en immunélectrophorèse. Ils proviennent de la digestion in vivo du fibrinogène par la plasmine et de la lyse de la fibrine formée dans les vaisseaux. L'apparition d'un inhibiteur de la fibrinoformation doit être rattachée à la présence de ces fragments de dégradation.

Les modifications observées en cas de choc modéré, sont du même ordre mais plus atténuées. La thrombopénie persiste peu de temps ; l'activation du système fibrinolytique reste modérée ; la diminution de l'activité prothrombinique globale est discrète et rapidement réversible. Ces troubles disparaissent en quelques heures. Aucun signe de coagulation intravasculaire n'est observé.

2° - Effets d'un apport d'héparine

Nous avons constaté que l'injection d'hématies incompatibles pratiquée chez le chien hépariné entraîne toujours une diminution du nombre de plaquettes et une activation modérée de la fibrinolyse.

Ces résultats nous permettent de préciser que la coagulation intravasculaire et la fibrinolyse n'occupent, chez le chien, qu'une place très limitée parmi les mécanismes mis en jeu par l'apport d'hématies incompatibles :

- Les anomalies de la coagulation consécutives à une injection modérée d'hématies incompatibles ne semblent dues ni à l'un ni à l'autre phénomène. En particulier, la diminution du nombre de plaquettes doit être attribuée à un mécanisme différent d'une coagulation intravasculaire diffuse. Nous pensons qu'une agglutination et une séquestration partiellement réversible de ces éléments, en liaison avec l'activation du complément, pourrait être à l'origine de cette thrombopénie.
- La neutralisation ou la suppression de l'héparine endogène conjuguée à une hypotension importante est favorable à l'activation intravasculaire de la coagulation et de la fibrinolyse. Il est difficile de situer chronologiquement ces deux processus car la thrombose n'est vérifiée qu'à l'autopsie ; d'autre part l'activité fibrinolytique n'est décelable que pendant l'hypotension ; cependant leurs effets respectifs s'additionnent et persistent plusieurs heures.

Dans ces conditions l'action préventive de l'héparine spontanément libérée chez le chien paraît incontestable.

- L'action antihéparinique des stromas érythrocytaires que nous avons vérifiée in vitro, pourrait, in vivo, dans les cas d'injections très

volumineuses d'hématies incompatibles, retarder ou masquer les effets de l'héparine endogène et favoriser ainsi l'activation intravasculaire de la coagulation.

III - Relations entre les modifications de la coagulation et certains phénomènes du choc.

1 - Le ralentissement circulatoire facilite l'activité thromboplastique des hématies lysées. Cette étude confirme la synergie entre l'hémolyse intravasculaire et l'hypotension dans la genèse d'une coagulation intravasculaire.

2 - L'activation fibrinolytique qui, selon la présence d'héparine, est plus ou moins accentuée, est étroitement liée à la gravité du choc. Pour expliquer ce fait nous avons formulé plusieurs hypothèses mettant en cause :

- l'action de catécholamines libérées en réponse à l'hypotension,
- une ischémie tissulaire ;
- une perturbation de l'irrigation du foie ;
- l'activité protéolytique d'un composant du complément.

3 - Nous avons constaté qu'au cours du choc se produit une libération d'histamine dont l'importance est en relation avec la quantité d'héparine libérée. Par analogie avec le choc anaphylactique, nous avons déduit de cette corrélation que les mastocytes hépatiques qui contiennent ces deux substances subissent une dégranulation lors de l'apport d'hématies incompatibles. Les résultats obtenus après utilisation de "dégranulants mastocytaires" tels le sulfate de protamine et le polybrène,

corroboient cette interprétation. En effet l'emploi de ces substances a pour conséquence la suppression concomitante de l'héparine et de l'histamine. Il en est de même après l'exclusion vasculaire du foie.

Ces relations dont nous ne pouvons préjuger la nature, constituent un moyen de cerner un mécanisme commun à plusieurs manifestations et fournissent des indications qui peuvent orienter des recherches ultérieures. Il est certain que l'action hypotensive de l'histamine ne permet pas de rendre compte du choc car celui-ci persiste lorsqu'on empêche toute décharge d'histamine. Les relations observées entre l'activation fibrinolytique et la diminution de la pression artérielle suggèrent qu'il serait intéressant de préciser le rôle joué par le complément dans la détermination du choc et dans la fibrinolyse. Dans ce sens, il serait utile d'étudier l'évolution des kinines plasmatiques qui pourraient être formées par des enzymes protéolytiques contribuant également à l'activité fibrinolytique.

En conclusion nous considérons que les modifications de la coagulation observées au cours du choc transfusionnel hémolytique reflètent l'interférence de nombreuses réactions humorales et cellulaires à la formation intravasculaire d'un complexe immunologique particulier : l'anticorps est une agglutinine qui fixe le complément ; l'antigène est un élément figuré dont la membrane lysée sous l'action du complément possède une activité coagulante.

BIBLIOGRAPHIE

- : - : - : - : - : - : -

- 1 - ADAMS S.S.,
The effect of anaphylactic and peptone shock on the coagulability of rabbit and guinea pig.
J. Pharm. Pharmacol. 1953, 5, 580
- 2 - AMBANELLI U., CATTABIANI G., DETTORI A.G. et PONARI O.,
Studio degli effetti dell'adrelina sulla emocoagulazione e sulla fibrinolisi.
Haematologica 1963, 48, 483
- 3 - ARCHER G.T.,
The release of histamine from mastcells by antigen-antibody reactions in vitro.
Austral.J. exp. Biol. Med. Sci. 1960, 38, 147
- 4 - ARCHER G.T.,
Release of heparin from the mastcells of the rat
Nature 1961, 191, 90
- 5 - ARVY L. et QUIVY D.,
Données sur la répartition des mastocytes chez le chien.
C.R. Ass. Anat. 1955, 42, 234
- 6 - ARVY L. et QUIVY D.,
Taux des labrocytes linguaux et coagulabilité sanguine chez le chien au cours de divers chocs.
C.R. Soc. Biol. 1955, 149, 481
- 7 - ATIK M., MANALE B. et PEARSON J.,
Prevention of acute renal failure (hemodynamic observations of transfusion reactions).
J.A.M.A. 1963, 183, 455

- 8 - BARRY K.G. et CROSSBY W.H.,
The prevention and treatment of renal failure following transfusion reactions,
Transfusion, 1963, 3, 34
- 9 - BELLEVILLE J., THOUVEREZ J.P., MIKAELOF P. et DESCOTES J.,
Etude des principaux tests de l'hémostase chez le chien normal.
Path. Biol. 1966, 14, 41
- 10 - BENDITT E. et ARASE M.,
An enzyme in mastcells with properties like chymotrypsin.
J. exp. Med. 1959, 110, 451
- 11 - BERALDO N.T.,
Formation of bradykinin in anaphylactic and peptone shock.
Am. J. Physiol. 1950, 163, 283
- 12 - BETTEX - GALAND M., LUSCHER E.F., SIMON G. et VASSALI P.,
Introduction of viscous metamorphosis in human blood platelets by mean other than by thrombin.
Nature 1963, 200, 1109
- 13 - BINET L. et BURSTEIN M.,
Le choc transfusionnel expérimental.
in Transfusion sanguine et actualités hématologiques
Ed. Masson. Paris, 1954, 494
- 14 - BLOMBÄCK M., JOHANSSON S. et SJÖBERG H.,
Coagulation factors and defibrination syndrome in anaphylaxis.
Acta. Physiol. scand. 1967, 69, 313
- 15 - BLUNDELL (1828) in
Histoire de la médecine - BARIETY M. et COURY C.
Fayard - Paris 1963

- 16 - BOHMIG H.J., FRITSCH A., KUX M. et ZEITELBERGER P.,
Gerinnungsveränderungen bei orthotoper Lebertransplantation am Hund.
Thromb. Diath. Haemorrh. 1969, 21, 332

- 17 - BOUCKAERT J.,
Technique d'hépatectomie en un temps chez le chien.
Biol. 1928, p. 768

- 18 - BRITTEN A.,
Heparin, protamin and polybrene. Their effect upon certain coagulation factors after incubation with plasma.
Thrombos. Diath. Haemorrh. 1965, 13, 550

- 19 - BROCKLEHURST W.E. et LAHIRI S.C.,
The production of bradykinin in anaphylaxis.
J. of Physiol. 1962, 160, 15 P

- 20 - CAILLARD B., DEVANT J. et KLEPPING J.,
Etude comparative de la coagulabilité sanguine chez l'homme et quelques espèces animales.
C.R. Soc. Biol. 1962, 156, 813

- 21 - CRISTEA M., SUHACIU G. et BUTCULESCU J.,
Evaluation du rôle de la bradykinine dans le choc anaphylactique.
Arch. Internation. Pharmacodyn. Therap. 1966, 159, 18

- 22 - CODE C.F.,
The histamin content of the blood of guinea pigs and dogs during anaphylactic shock.
Am. J. Physiol. 1939, 127, 78

- 23 - DALE H.H.,
Some chemical factors in the control of the circulation. Lecture III
Local vasodilators reactions. Histamin. Acetylcholine ; conclusion.
Lancet 1929, 1, 1285

- 24 - DAWSON W., STARR M. J. et WEST G.B.,
Bradykinin and anaphylaxis in the rat.
J. of Physiol. 1965, 180, 14 P
- 25 - DENIS J (1667) in
Histoire de la médecine - BARIETY M., et COURY C.
Fayard - Paris 1963
- 26 - DESMET V., VERSTRAETE M. et VAN DENBROUCKE
Propriétés coagulantes d'hémolysats érythrocytaires.
Thromb. Diath. Haemorrh. 1957, 5, 459
- 27 - DILLON M.L. et EADIE G.S.,
Hypotension from transfusion in non sensitized dogs.
Bibl. Haemat. 1964, 19, 601
- 28 - DOSNE A.M.,
Etude des variations de la coagulation consécutives à l'injection de
sang homospécifique incompatible chez le chien.
C.R. Soc. Biol. 1967, 161, 1501
- 29 - DOSNE A.M., JOSSO F., SOULIER J.P., LAVERGNE J.M. et MALMEJAC J.,
Injection d'extraits tissulaires et d'hémolysats autologues chez le
chien. Effets sur les facteurs de l'hémostase.
Nouv. Rev. Franç. Hemat. 1968, 8, 21
- 30 - DOSNE A.M. et ROUX A.,
Rôle de l'histamine libérée au cours du choc déclenché chez le
chien par l'injection de globules rouges hétérologues incompatibles.
J. de Physiol. 1969, 161, suppl. 2, 273
- 31 - EGEBERG O.,
Blood coagulation and intravascular hemolysis.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1962, 14, 217

- 32 - EYQUEM A. et ASMAR R.,
Rôle des antihistaminiques de synthèse dans les transfusions expérimentales incompatibles,
C. R. Soc. Biol. 1950, 144, 913
- 33 - FARBISZEWSKI R., NIEWIAROWSKI S., WOROWSKI K. et LIPINSKI B.,
Release of platelet factor 4 in vivo during intravascular coagulation and in thrombotic states.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 1968, 19, 578
- 34 - FERRI R.G. et FERREIRA H.E.,
Immunochemical studies on the circulating products of fibrinogenolysis in certain pathological condition.
Vox. Sang. 1963, 8, 356
- 35 - FLETCHER A.P., BIEDERMAN O., MOORE D., ALKJAERSIG N. et SHERRY S.,
Abnormal plasminogen-plasmin system activity (fibrinolysis) in patients with hepatic cirrhosis : its cause and consequence.
J. Clin. Invest. 1964, 43, 681
- 36 - FLEURY P.,
Fiches techniques de chimie biologique - Fiche sang 6 bis -
Dosage ferrocolorimétrique de l'hémoglobine.
Ed. VEGA 1960
- 37 - FLUTE P. ., RAKE M.O., WILLIAMS R. et CALNE R.Y.,
Liver transplantation in man. IV Haemorrhage and thrombosis.
Brit. Med. J. 1969; 3, 20
- 38 - FORWELL G.D. et INGRAM G.I.,
The effect of adrenalin infusion on human blood coagulation.
J. Physiol. 1957, 135, 371
- 39 - FREUNDLICH M.H. et GERARDE H.W.,
A new automatic disposable system for blood counts and hemoglobin.
Blood. 1963, 21, 648

- 40 - FRIEDBERGER E. et WEISSFEILER J.,
Cité par BIER O.G in : Rôle du complément dans les phénomènes immunobiologiques.
Path. Biol. 1966, 14, 862
- 41 - FRIESEN S.R., HARSHA W.N. et Mc CROSKEY C.H.,
Massive generalized wound bleeding during operation with clinical and experimental evidence of blood transfusions reactions,
Surgery 1952, 32, 620
- 42 - FUNCK - BRENTANO J.L. et JUNGERS P.,
Les accidents rénaux de la transfusion sanguine.
Press. Med. 1960, 68, 860
- 43 - GAERTNER H.A. et LISIEWICZ J.,
Role of red cell-plasma volume relationship in regulation of hemostasis.
A thrombelastographic study.
Coagulation. 1969, 2, 165
- 44 - GALLIMORE M.J., NULKAR M.V. et SHAW J.T.,
A comparative study of the inhibitors of fibrinolysis in human dog and rabbit blood.
Thromb. Diathes. Haemorrh. 1965, 14, 145
- 45 - GARNIER H. et CLOT J.P.,
Un cas de transplantation orthotopique du foie,
Press. Med. 1969, 77, 883 et 1185
- 46 - GLAZKO A.J. et FERGUSON J.H.,
Inhibition of tryptases by heparin.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1940, 45, 43
- 47 - GOCKE D.J. et OSLER A.G.,
In vitro damage of rabbit platelets by an unrelated antigen - antibody reaction.
J. Immunol. 1965, 94, 236

- 48 - GREEF K., SHARNAGEL K., LUHR R. et STROBACK H.,
Die Abnahme des Kininogengehaltes des Plasma beim toxischen
anaphylactischen und anaphylactoiden Schock.
Arch. exp. Path. Pharmac. 1966, 253, 235
- 49 - GREENE R.W. et Mc CONNAUGH Y.,
Effects of thrombin and platelets concentration and clot retrac-
tion on fibrin strands width.
J. Clin. Invest. 1955, 34, 417
- 50 - GUERRA L., VERGOZ D., DUHAMEL G., SIZARET P. et ANDRE R.,
L'hémostase après transfusion incompatible chez le lapin.
Coagulation. 1969, 2, 31
- 51 - GUSTAFSON B.E., et CRONBERG S.,
Comparison of the effect of compound 48/80, protamine and tur-
pentine oil on mastcell degranulation.
Acta. Rheum. Scand. 1957, 3, 189
- 52 - GUTH P.S., CANO G. et JARAMILLO J.,
The effect of bradykinin on vascular smooth muscle.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1963, 104, 69
- 53 - HADNAGY C.S., KINDA K. et SZABO I.
Der hämolytischen Schock (Serologische Untersuchungen)
Ztschft. Immunität. exper. Therap. 1960, 121, 1
- 54 - HAMER N.A., DICKINSON F.J., DOW J.W. et GADBOYS L.H.,
Anaphylactoid shock from blood exchange as a factor in experimen-
tal cardiopulmonary bypass.
Thorax 1959, 14, 281
- 55 - HARDAWAY R., Mc KAY D., WAHLE G., TAROCK D. et EDELSTEIN R.,
Pathologic study of intravascular coagulation following incompa-
tible blood transfusion in dogs.
Amer. J. Surg. 1956, 91, 24

- 56 - HARDAWAY R.,
Blood coagulation changes after shock and transfusion of incompatible blood.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1964, 115, 151
- 57 - HARDAWAY R.M.,
Syndromes of disseminated intravascular coagulation.
Charles C. Thomas, édit. Springfield 1966.
- 58 - HARTERT H.,
Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie.
Klin. Wochenschr. 1948, 26, 577
- 59 - HERZBERG J.J.,
Die Störungen der Blutgerinnung und deren Bedeutung für die Pathogenese der cutanen Mastocytose.
Arch. Klin exp. Dermat. 1959, 208, 559
- 60 - HOLEMANS R. et LANGDELL R.,
Histamine induced increase in fibrinolytic activity.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1964, 115, 584
- 61 - HOUGIE C.,
Anticoagulant action of protamine sulfate.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1958, 98, 130
- 62 - HUTCHINSON D.E., GENTOW E., PORTER K.A. et STARZL T.E.,
Platelet changes following clinical and experimental hepatic homotransplantation.
Arch. Surg. 1968, 97, 27
- 63 - IZAK G. et GALEWSKI K.,
Studies on experimentally induced hypercoagulable state in rabbits.
Thromb. Diath. Haemorrh. 1966, 16, 228

- 64 - JANUSKO T., FURMAN M. et BULUK K.,
The kidneys and the liver as the organ regulating the fibrinolytic system of the circulating blood.
Thromb. Diath. Haemorrh. 1966, 15, 554
- 65 - JAKES L.B. et WATERS E.T.,
The identity and origin of the anticoagulant of anaphylactic shock in the dog.
J. of Physiol. 1941, 99, 454
- 66 - JUTZLER G.A.,
Zwei hämolytische Transfusionszwischenfälle durch Fehltransfusion grosser Mengen gruppungsgleichen Blutes.
Bibl. haemat. 1966, 20, 109
- 67 - KARLSON K.E. et LERNER B.,
Effect of polybrene on blood coagulation of the dog.
Ann. Surg. 1962, 156, 6
- 68 - KELLER R.,
Zur Bedeutung von Komplement bei der umgekehrten Anaphylaxie isolierter Mastzellen der Albinoratte.
Path. Microbiol. 1963, 26, 671
- 69 - KIMURA E.T. et EBERT D.M.,
Further studies on hexadimethrine bromide (polybrene) : an antiheparine agent.
Toxicol. appl. Pharmacol. 1959, 1, 560
- 70 - KIMURA E.T. et RICHARD R.K.,
Interaction of histamin, serotonin and heparin with hexadimethrine bromide a mastcells fragmentator.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1961, 107, 19
- 71 - KISSMEYER - NIELSEN F., JENSEN K.B. et ERSBACK J.,
Severe haemolytic transfusion reaction caused by apparently compatible red cells.
Brit. J. Haemat. 1961, 7, 36

- 72 - KLEIN K. et HENK W.,
 Untersuchung über die Beeinflussung des Adrenalineffektes auf
 die Hämodynamik und Blutgerinnung durch Monoaminoxidase-
 hemmer.
 Med. Welt. 1963, 51, 2620
- 73 - KLUGE A., KRAH E. et SCHIMPF K.,
 Hämolytisch-hämorrhagischer Transfusionszwischenfall infol-
 ge inkompletter Blutgruppen-Antikörper.
 Thromb. Diath. Haemorrh. 1969, 21, 472
- 74 - KOWALSKI E., BUDZYNSKI A.Z., KOPEL M., LATTALLO S.Z.
 LIPINSKI B. et WEGRZYNOWCICZ Z.,
 Circulating Fibrinogen degradation products (F. D. P.) in dogs
 after intravenous thrombin infusion.
 Thromb. Diath. Haemorrh. 1965, 13, 12
- 75 - KREVANS J.R., JACKSON D.P., CONLEY C.L. et HARTMAN R.C.,
 The nature of the hemorrhagic disorders accompanying hemolytic
 transfusion reactions in man.
 Blood, 1957, 12, 834
- 76 - KWAAN H.C. et MACFADZEAN A.J.S.,
 On plasma fibrinolytic activity induced by ischemia.
 Clin. Sc. 1956, 15, 245
- 77 - KWAAN H.C. LO R. et MACFADZEAN A.J.S.,
 On the production of plasma fibrinolytic activity within veins.
 Clin. Sc. 1957, 16, 241
- 78 - LAGUNOFF D. et BENDITT E.P.,
 Proteolytic enzymes of mastcells.
 Ann. N. Y. Acad. Sci. 1963, 103, 185
- 79 - LAMBERT P.H.,
 Evolution des facteurs de l'hémostase après perfusion d'hémo-
 lysats chez le lapin. Influence de l'héparine.
 C. R. Soc. Biol. 1966, 160, 427

- 80 - LAMBERT P.H.,
Effets d'hémolysats sur la coagulation du plasma de lapin,
C. R. Soc. Biol. 1966, 160, 202
- 81 - LAMBERT P.H., et SALMON J.,
Réactions anaphylactiques du lapin et coagulation intravasculaire.
C. R. Soc. Biol. 1966, 160, 1337
- 82 - LANGDELL R. D. et HEDGEPEETH E. M.,
A study of the role of hemolysis in the hemostatic defect of transfusion reactions.
Thromb. Diath. Haemorrh. 1959, 3, 566
- 83 - LARRIEU M.J., MARDER V.J. et INCEMAN S.,
Effect of fibrinogen degradation products on platelets and coagulation.
In : Diffuse intravascular clotting. Thromb. Diath. Haemorrh. 1966, suppl. 20, 215
- 84 - LATALLO Z.S., FLETCHER A.P. et ALKJAERSIG N.,
Inhibition of fibrin polymerization by fibrinogen proteolysis products.
Am. J. Physiol. 1962, 202, 681
- 85 - LATALLO Z.S., BUDZYNSKI A.S. et PIPINSKI B.,
Inhibition of thrombin and of fibrin polymerization, two activities derived from plasmin digested fibrinogen.
Nature 1964, 203, 1184
- 86 - LECLERC M., et KHODABANDEH A.,
Micromethode de dosage du fibrinogène plasmatique.
Ann. Biol. Clin. 1953, 2, 596
- 87 - LECOMTE J.,
Rôle accessoire des kininogènes dans le déterminisme du choc anaphylactique du rat.
C. R. Soc. Biol. 1968, 162, 1014

88 - LEE R. I. et VINCENT B.,

A study of the effect of anaphylaxis and beef extract on the coagulation of blood.

Journ. of med. Res. 1915, 32, 445

89 - LEPOW I. H., RATNOFF O.D. et PILLEMER L. ,

Elution of an esterase from antigen-antibody aggregates treated with human complement.

Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1956, 92, 111

90 - LEROUX M.E.,

La thrombelastographie. Etudes théoriques, techniques, expérimentales et cliniques sur la thrombélustographie et sur quelques problèmes annexes liés à la biologie de la coagulation sanguine.

Les Dessins et Tirages Publicitaires. M. GARCIA. Asnières 1957.

91 - LEWIS J.H. et SZETO I.L.F.

Effects of intravenous tissue thromboplastin in dogs. Development of an anticoagulant.

J. Lab. Clin. Med. 1962, 60, 261

92 - LICHT W., JUTZLER G.A., BUCH U. et HOFMAN K.T. ,

Verbrauchskoagulopathie bei hämolytischen Transfusionen.

Dtsch. Med. Wschr. 1968, 93, 344

93 - LÜSCHER E.F. et MUELLER - ECKHARDT C.H.,

Immune reactions of human blood platelets. I. A comparative study on the effects on platelets of heterologous antiplatelet antiserum, antigen-antibody complexes, aggregated gammaglobulin and thrombin.

Thromb. Diath. Haemorrh. 1968, 20, 155

94 - LÜSCHER E.F. et MUELLER - ECKHARDT C.H.,

Immune reactions of human blood platelets II. The effect of latex particle coated with gammaglobulin in relation to complement activation.

Thromb. Diath. Haemorrh. 1968, 20, 168

- 95 - MALMEJAC J. ,
Vasomotricité hépatique
Nutrition 1937, 7, 113
- 96 - MALMEJAC J. et DESANTI E. ,
Peau irriguée et incompatibilité sanguine
C.R. Soc. Biol. 1938, 127, 1269
- 97 - MALMEJAC J., CHARDON G. et CRUCK S. ,
Etude analytique des réactions vasomotrices locales au cours des
chocs.
Arch. inter. Physiol. 1946, 54, 178
- 98 - MALMEJAC J. et NEVERRE G. ,
Surrenale irriguée et incompatibilité sanguine.
C.R. Soc. Biol. 1950, 144, 526
- 99 - MALMEJAC J., GROSS A. et PLANE P. ,
Choc anaphylactique localisé à la glande surrenale.
Influence de l'adréalinosecrétion.
C.R. Soc. Biol. 1950; 144, 1035
- 100 - MALMEJAC J., GROSS A. et NEVERRE G. ;
Choc anaphylactique surrénal local et influences nerveuses et adrénalinosecrétrices.
J. Physiol. 1950, 42, 658
- 101 - MALMEJAC J., GROSS A. et NEVERRE G.,
Dissociation des effets adrénalinosecréteurs d'origine centrale
et périphérique au cours du choc anaphylactique.
Bull. Acad. Med. 1950, 134, 353
- 102 - MALMEJAC J., GROSS A. et NEVERRE G. ;
Histamine et adrénalinosecrétion.
C.R. Soc. Biol. 1951, 145, 704
- 103 - MANWARING W.H., HOSEPIAN W.M., ENRIGHT J.R. et PORTER D.R. ;
Hepatic reactions in anaphylaxis. Effect of dehepatization on the
reaction of certain smooth muscle structures in canine anaphylaxis.
J. Immunol. 1925, 10, 567

- 104 - Mc KAY D.G., HARDAWAY R.M., WAHLE G.H., EDELSTEIN R.
et TARTOCK D.E.,
Alterations in blood coagulation mechanism after incompatible
blood transfusion.
Am. J. Surg. 1955, 89, 583
- 105 - MELNICK D., BURACK E. et COWGILL G. R.,
Development of incompatibilities in dogs by repeated infusion
of red blood cells.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1935, 33, 616
- 106 - MERSKEY C., KLEINER G.J., et JOHNSON A. J.,
Quantitative estimation of splits products of fibrinogen in human
serum, relation to diagnosis and treatment.
Blood 1966, 28, 1
- 107 - MILSTONE H.,
A factor in normal human blood which participates in streptoco-
cal fibrinolysis.
J. Immunol. 1941, 48, 109
- 108 - MOLLISON P.L.,
Blood group antibodies and red cells destruction.
Brit. Med. J. 1959, 2, 1035 et 1123
- 109 - MOORE J.M.,
Uncontrollable postoperative haemorrhage after incompatible
blood transfusion.
Brit. Med. J. 1958, 1201
- 110 - MOULLEC J., et SOULIER J.P.,
Les accidents hémolytiques de la transfusion sanguine causés par
les isoanticorps.
Ann. Biol. Clin. 1962, 20, 295

- 111 - MUIRHEAD E.E.,
Incompatible blood transfusions with emphasis on acute renal failure.
Surg. Gyn. Obst. 1951, 92, 734
- 112 - NELSON R., EDER W., EDDY F., KARLSON K., et DENNIS C.,
Production of a hemorrhagic state by infusion of hemolysed blood.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1950, 73, 208
- 113 - NERI SERNERI G., ROSSI FERRINI P., PAOLETTI P., et PANTI A.,
Ricerca sull' influenza dei fattori vasculotessutali sulla coagulazione et sulla fibrinolisi.
G. Gerontol. Ital. 1964, 12, 1499
- 114 - NIEWIAROWSKI S., et KOWALSKI E.,
Un nouvel anticoagulant dérivé du fibrinogène.
Rev. Hemat. 1958, 13, 320
- 115 - NIEWIAROWSKI S., FARBISZEWSKI R., et POPLANSKI A.,
Neutralisation of antithrombin VI (fibrinogène breakdown products) with platelets antiheparin factor (platelet factor 4).
Thromb. Diath. Haemorrh. 1965, 14, 490
- 116 - NILEHN J.E.,
Influence of splits products of fibrinogen on results of blood coagulation test and platelets adhesiveness.
Scand. J. Haemat. 1967, 4, 430
- 117 - NILEHN J.E., ARONSEN K.F. et ERICSSON B.,
Change in blood clotting factors after massive liver resection and total hepatectomy in dogs.
Acta. Chir. Scand. 1967, 133, 183
- 118 - NILSSON I.M., BIELAVIC M. et BJORKMAN S.E.,
The effects of heparin on fibrinolytic activators and plasmin.
Scand. J. Haemat. 1964, 1, 75

- 119 - NILSSON I.M.,
Primary and, or secondary plasma proteolysis as a cause of
hemorrhage.
Symposium on intravascular coagulation
GRISSEHAMN may 1967
- 120 - NOLF P.,
La composition protéique du milieu humoral. III De l'anaphy-
laxie.
Arch. int. Physiol. 1911, 10, 37.
- 121 - NORDSTROM S. et ZETTERQVIST E.,
Effect of thrombin infusion upon ¹³¹I labelled fibrinogen in dogs.
Acta physiol. scand. 1968, 72, 85
- 122 - NUSSENZWEIG J., SELIGMAN M. et GRABAR P.,
Les produits de dégradation du fibrinogène par la plasmine.
Etude immunologique. Mise en évidence d'anticorps antifibrino-
gène natif possédant des spécificités différentes.
Ann. Institut Pasteur, 1961, 100, 490
- 123 - OTTENBERG R., KALISKI D.J. et FRIEDMAN S.S.,
Experimental agglutinative and hemolytic transfusions.
J. Med. Research. 1913, 28, 141
- 124 - PAFF G.H. et MERGENTHALER D.D.,
Vacuolation in normal mastcells and in mastcells treated with
protamine sulfate.
Anat. Rec. 1955, 121, 579
- 125 - PECHET L., GROTH C.H. et DALOZE D.M.,
Changes in coagulation and fibrinolysis after orthotopic canine
liver homotransplantation.
J. Lab. Clin. Med 1969, 73, 91

- 126 - PERKINS H.E., HARKINS G., GERBODE F., ROLF M. et ACRA D.J.,
Comparison of effects of protamine and polybrene with special
emphasis on the factor VIII (antihemophilic globulin) deficiency
induced.
J. Clin. Invest. 1961, 40, 1421
- 127 - PIFER P.W., BLOCK A. et HODGKINSON C.P.,
Thrombocytopenia and hemorrhage in hemolytic blood transfusions
reactions.
Surg. Gynec. Obst. 1956, 103, 129
- 128 - PONFICK P., (1875)
in MOLLISON P.L., blood group antibodies and red cells des-
truction.
Brit. Med. J., 1959, 2, 1035
- 129 - POPLANSKI A. et NIEWIAROWSKI S.,
Method for determining antiheparin activity of platelets and ery-
throcytes .
Thromb. Diath. Haemorrh. 1965, 13, 149
- 130 - QUICK A.J.,
The prothrombin in hemophilia and in obstructive jaundice.
J. Biol. Chem. 1935, 109, 73
- 131 - QUICK A.J., GEORGATSOS J.G. et HUSSEY C.V.,
The clotting activity of human erythrocytes : theoretical and clinical
implications.
Am.J. Med. Sci. 1954, 228, 207
- 132 - QUICK A.J. et HICKEY M.E.,
Erythrocyte extract (hemolysate) and tissu thromboplastin.
Their action on heparin activity.
Proc. Soc. Exp. Biol. 1960, 103, 608

- 133 - RABINER S. et FRIEDMAN L.H.,
The role of intravascular haemolysis and the reticuloendothelial system in the production of a hypercoagulable state.
Brit. J. Haemat. 1968, 14, 105
- 134 - RABY C., in ;
Biologie des hemorrhagies et des thromboses.
Masson - Paris 1966 (p. 191-192)
- 135 - RAPAPORT S.I., HJORT P.F., PATCH M.J. et JEREMIC M.,
Consumption of serum factors and prothrombin during intravascular clotting in rabbits.
Scand. J. Haemat. 1966, 3, 59
- 136 - REUSE J.,
Antihistaminiques de synthèse et choc anaphylactique.
IIème Congrès international de Therapeutique . (p. 331-343)
Ed. ARSCIA Bruxelles 1949
- 137 - RILEY J.F.,
Pharmacology and functions of the mastcells.
Pharmacol. Rev. 1955, 7, 267
- 138 - ROCHA e SILVA M., ANDRADE S.O., et TEIXEIRA R.M.,
Fibrinolysis in peptone and anaphylactic shock in the dog.
Nature 1946, 157, 801
- 139 - ROCHA e SILVA M.,
The role played by leucocytes and platelets in anaphylactic and peptone shock.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 1950, 50, 1045
- 140 - ROCK R.C., BOVE J.R. et NEMERSON J.,
Heparin traitement of intravascular coagulation accompanying transfusion reaction.
Transfusion, 1969, 9, 57

- 141 - ROWLEY D.A.,
 Venous constrictions as the cause of increased vascular permeability produced by 5 - hydroxytryptamine, histamine, bradykinine and 48/80 in the rat.
 Brit. J. exper. Path. 1964, 45, 56
- 142 - RUFF F., SAINDELLE A., DUTRIPON E. et PARROT J.L.,
 Continuous automatic fluorimetric evaluation of total blood histamine.
 Nature, 1967, 214, 280
- 143 - SALMON J. et LECOMTE J.,
 Action comparée du polybrène sur les chocs provoqués par le dextran et par l'antigène spécifique.
 C.R. Soc. Biol. 1966, 160, 708
- 143 a - SELYE H.,
 The mastcells - Washington . Butterworths 1965
- 144 - SERAFINI U.M. et CENTURELLI G.,
 The coagulation properties of human erythrocytes .
 J. Clin. Path. 1959, 15, 325
- 145 - SHIMAMOTO T. et ISHIOKA T.,
 Release of thromboplastic substance from arterial walls by epinephrine.
 Circul. Res. 1963, 12, 138
- 146 - SHINOWARA G.Y.,
 Enzymes studies of human blood. Isolation and characterization of thromboplastic cell and plasma components.
 J. Lab. clin. Med. 1951, 38, 11
- 147 - SIQUEIRA M. et NELSON R.A. Jr,
 Platelet agglutination by immune complexes and its possible role in hypersensitivity .
 J. Immunol. 1951, 86, 516

- 148 - SORIA J.,
Contribution à l'étude de la physiopathologie de la fibrinoformation.
Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie
Paris 1968
- 149 - SOULIER J.P.,
Surveillance d'un traitement hépariné. Appréciation de la dose de protamine à injecter.
Press. Med. 1959, 67, 2187
- 150 - STIFFEL C., del GUERCIO P. et MOUTON D.,
Relations entre la phagocytose des hématies de mouton ou de rat et le taux des anticorps naturels ou immuns chez la souris.
Path. Biol. 1968, 16, 415
- 151 - STORTI E. et VACCARI. F.,
Reazione emolitica transfusionale da incompatibilita di gruppo (sistema ABO) trattata con heparina.
Minerva Medica 1955, 46, 145
- 152 - SWISHER S.N., YOUNG L.E. et TRABOLD N.,
In vitro and in vivo studies of the behaviour of canine erythrocyte isoantibody system.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 1962, 97, 15
- 153 - THON I.L. et UVNÄS B.,
Mode of storage of histamine in mastcells .
Acta physiol. scand. 1966, 67, 455
- 154 - THON I.L. et UVNÄS B.,
Degranulation and histamine release, two steps in the response of rat mastcells to compound 48/80.
Acta physiol. scand. 1967, 71, 303

- 155 - TRIANTAPHYLLOPOULOS D.C. ,
Enzymatic effects of fibrinolysin.
Fed. Proceed. 1965, 24, 800
- 156 - UNGAR G.,
Release of proteolytic enzyme in anaphylactic and peptone
shock in vitro.
Lancet, 1947, 1, 881
- 157 - UNGAR G. et MIST S.H.,
Observations of the release of serum fibrinolysin by specific
antigen , peptone and certain polysaccharidēs.
J. Exptl. Med. 1949, 90, 39
- 158 - URBACH F., BELL W. et JACOBSON C.,
Studies on urticaria pigmentosa. I release of heparinoid ma-
terial into the circulation following direct stimulation of urti-
caria pigmentosa lesions.
J. Invest. Derm. 1955, 25, 211
- 159 - VOGEL P., ROSENTHAL N., et LEVINE P.,
Hemolytic reactions as a result of isoimmunisation following
repeated transfusions of homologous blood.
Am. J. Clin. Path. 1943, 13, 1
- 160 - WACHHOLDER K., EGLI M., KESSELER K., BUSCHA H. et
FELDERHOF B.,
Der Einfluss von Adrenalin und Noradrenalin auf die Blutgerin-
nung.
Med. Exp. 1961, 4, 151
- 161 - WATERS N.J. et LACSON P.S.,
Mastcell leukemia presenting as urticaria pigmentosa .
Pediatrics 1957, 19, 1033

- 162 - WENZEL D. G. et SINGH J.,
Effect of nicotin and epinephrine on in vivo coagulation time
in rabbits.
J. Pharm. Sci. 1962, 51, 875
- 163 - WOOLRIDGE L.C.,
Note on the relation of red blood cells to coagulation,
Pratictioner, 1886, 36, 187
- 164 - YOUNG L.E., ERVIN D.M. et YUILE C.L.,
Hemolytic reactions produced in dogs by transfusion of incom-
patible blood and plasma. I serologic and hematologic aspects.
Blood. 1949, 4, 1218
- 165 - YUILE C.L. , VANZANDT T.F., ERVIN D.M. et YOUNG L.E.,
Hemolytic reactions produced in dogs by transfusion of incom-
patible dog blood and plasma. II Renal aspects following whole
blood transfusions.
Blood, 1949, 4, 1232
- 166 - ZACHARIAE H.,
Histamine in human blood determined by spectrofluorimetry.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1963, 15, 173
- 167 - ZUNZ E. et LA BARRE J.,
Contribution à l'étude des modifications de la coagulation du
sang au cours du choc anaphylactique chez le chien.
Arch. int. Physiol 1925, 24-25, 221

TABLE DES MATIERES

AVANT PROPOS

<u>INTRODUCTION</u> :	I - HISTORIQUE ET DONNEES ACTUELLES DU PROBLEME	1
	II - RAPPEL DES PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES DE L'HEMOSTASE	10
<u>PREMIERE PARTIE</u> :	METHODES ET TECHNIQUES	
	I - PREPARATION DES ANIMAUX	18
	II - EXAMENS EFFECTUES	23
<u>DEUXIEME PARTIE</u> :	EFFETS D'UN APPORT D'HEMATIES INCOMPATIBLES CHEZ LE CHIEN .	
	I - CHEZ LES CHIENS NON PREPARES	
	A - Injection de 0,4 - 0,8 Cm ³ /kg d'hématies	31
	B - Injection de 1 - 2 cm ³ /kg d'hématies	33
	II - CHEZ LES CHIENS SENSIBILISES	37
	III - DISCUSSION	38
<u>TROISIEME PARTIE</u> :	ANALYSE EXPERIMENTALE DU ROLE DE L'HEPARINE.	42
	I - EFFETS DE LA NEUTRALISATION DE L'HEPARINE REALISEE AU COURS DU CHOC	44
	II - EFFETS DE LA NEUTRALISATION DE L'HEPARINE PAR L'ADMINIS- TRATION PREALABLE D'ANTAGONISTES	
	A - Par le sulfate de protamine	
	a - réactions observées chez l'animal non préparé	49
	b - réactions observées chez l'animal sensibilisé	49
	c - discussion	50
	B - Par le polybrène	
	a - réactions observées chez l'animal non préparé	52
	b - réactions observées chez l'animal sensibilisé	54
	c - discussion	57

C - Comparàison entre les effets de protamine et du polybrène	62
D - Conclusion	63
III - EFFETS D'INJECTION D'HEMATIES DE RAT APRES EXCLUSION DU FOIE	64
IV - EFFETS D'INJECTION PREALABLE D'HEPARINE	69
V - CONCLUSION	70
 <u>QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION DES MECANISMES</u>	
I - HEPARINE	72
II - AUGMENTATION DES ACTIVATEURS DU PLASMINOGENE	77
III - ACCELERATION DE LA COAGULATION	79
IV - THROMBOPENIE	81
V - COAGULATION INTRAVASCULAIRE	82
VI - ROLE DU COMPLEMENT	84
 <u>CONCLUSIONS</u>	88

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Vu et approuvé

Paris, le 26 Juin 19 70

Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Paris

Marc. ZAMANSKY

Vu
et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

Robert MALLET

